



CATÓLICA
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA (PORTO)
Escola Superior de Biotecnologia

Desenvolvimento de tisanas

por:

Diana Orquídea Cavadas da Rocha,

dezembro, 2016



CATÓLICA
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO
Escola Superior de Biotecnologia

Desenvolvimento de tisanas

Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa
para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação

por:

Diana Orquídea Cavadas da Rocha,

Local: Cantinho das Aromáticas

Orientação: Professor Doutor Francisco Manuel Morais Sarmento de Campos

Co-orientação: Professora Doutora Maria Manuela Estevez Pintado

dezembro 2016

Dedicatória

À minha família, que sempre me apoiou em tudo!

“Would you like an adventure now, or shall we have our tea first?”
- Peter Pan

Resumo

As tisanas são preparações aquosas obtidas a partir de uma ou mais ervas aromáticas, recorrendo aos processos de decocção, infusão ou maceração, excluindo a utilização da espécie *Camellia sinensis*. O processo de infusão foi a metodologia aplicada no presente trabalho para a preparação das tisanas, consistindo na imersão de partes das plantas em água quente durante um período de tempo. Fatores como qualidade da matéria-prima, qualidade da água, temperatura da água, tempo de extração e concentração da infusão influenciam as características sensoriais das tisanas.

O objetivo do presente do projeto de mestrado foi desenvolver duas misturas de ervas aromáticas para a preparação de tisanas através do processo de infusão. Existiam dois “temas” para a sua criação: a época natalícia e a sensação de frescura. O trabalho foi constituído por 3 fases: desenvolvimento/criação propriamente dita dos produtos; condução de testes de preferência e aceitabilidade junto dos consumidores; análise da composição dos óleos essenciais das infusões desenvolvidas para o projeto. Foram avaliadas duas misturas para cada uma das temáticas propostas.

Os testes de preferência e aceitabilidade conduzidos na componente sensorial permitiram determinar as misturas com maior potencialidade junto do consumidor. A mistura preferida para a temática natalícia é composta por: tomilho-limão, hipericão-do-gerês, canela e cravinho. A tisana preferida relacionada com o “tema” da frescura tem na sua composição: manjeriço-limão, lima-kaffir, hortelã-vulgar, alfazema e perpétua rosa.

A componente química do trabalho permitiu identificar quais os principais compostos voláteis que se encontram em maior proporção nas misturas através da aplicação de *Head Space Solid Phase Extraction* (HS-SPME) e cromatografia em fase gasosa com espectrometria de massa (GC-MS). Porém, não foi possível a identificação de todos os compostos presentes nos cromatogramas. A mistura natalícia preferida continha na sua composição: geraniol, eucaliptol, cinamaldeído, eugenol, linalol /acetato de linalilo, citral e nerol. Quanto à amostra dedicada ao tema da frescura tinha maioritariamente na sua composição: linalol /acetato de linalilo, isopulgol, eucaliptol e D-carvona.

Palavras-chave: Tisanas, infusão, misturas de ervas aromáticas, testes de preferência e aceitação, compostos voláteis, SPME

Abstract

Infusions are aqueous preparations obtained from one or more herbs, using decoction, infusion or maceration procedures of plants other than *Camellia sinensis*. The infusion method was the methodology used in this paper for preparing tisanes, consisting in immersing the plant parts in hot water over a period of time. Factors such as quality of raw materials, water quality, water temperature, extraction time and concentration affect the sensory characteristics of tisane.

The purpose of this master's work was to develop two final mixtures of herbs for the preparation of tisanes through the infusion process. There were two "themes" for its creation: the Christmas season and the freshness feeling. The study consisted of three phases: development / actual creation of products; conducting preference tests and acceptability among consumers; analysis of the composition of the essential oils of the infusions developed for the project. In the thesis two blends for each of the proposed themes were assessed.

The preference and acceptability tests allowed to determine the blends that had greater potential among consumers. The preferred blend with the Christmas theme is made up of: lemon thyme, tutsan, cinnamon and cloves. The preferred herbal tea related to the "theme" of freshness has in its composition: basil-lemon, lime-kaffir, spearmint, lavender and globe amaranth pink.

The chemical analysis of the infusions allowed the identification of main volatile compounds in the blends by the application of Head Space Solid Phase Extraction (HS-SPME) and gas chromatography with mass detection (GC-MS). However, it was not possible to identify all compounds present in the chromatograms. The favourite Christmas mixture contained in its composition: geraniol, eucalyptol, cinnamaldehyde, eugenol, linalool / linalyl acetate, citral and nerol. Concerning the mixture selected for freshness feeling, the composition is: linalool/ linalyl acetate, isopulgol, eucalyptol and D-carvone.

Keywords: tisanes, infusion, mixed herbs, preference and acceptance tests, volatile compounds, SPME

Agradecimentos

Sozinha não teria sido possível percorrer esta caminhada. Este espaço é para agradecer o apoio de todos aqueles que tornaram possível realizar este projeto.

Quero começar por agradecer ao Engenheiro Luís Alves, por ter-me proporcionado esta oportunidade e pela transmissão de conhecimentos. Um grande obrigada a toda a equipa do Cantinho das Aromáticas que me acolheu como fizesse parte da sua família.

À Professora Doutora Manuela Pintado e ao Professor Doutor Francisco Campos pela orientação, disponibilidade e rigor que incutiram no trabalho. O seu auxílio e apoio foi fundamental para a sua concretização.

A todos os Professores e Técnicos da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica que contribuíram para que fosse possível executar o presente projeto.

À Escola Superior de Biotecnologia por tornar possível esta experiência e por contribuir no meu crescimento profissional.

Aos meus Pais, Irmã e Avó porque sem eles não seria possível. Que ouviram todas as minhas incertezas, dúvidas e anseios e que nunca me deixaram desistir. Que me fizeram acreditar que era capaz de chegar até aqui.

E por último, aos meus amigos que mesmo sem saberem como ajudar, aturaram-me com muita paciência, sempre com uma palavra de apoio.

Muito obrigada a todos!

Índice	
Dedicatória.....	i
Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Agradecimentos.....	vii
Lista de Figuras.....	xiii
Lista de tabelas.....	xv
1. Apresentação do Local de Estágio:.....	1
1.1. Principais etapas da produção.....	1
1.2. Certificação.....	3
1.3. Prémios e reconhecimento dos produtos.....	4
1.4. Voluntariado.....	4
2. Objetivos do Trabalho de Mestrado/Estágio no Cantinho das Aromáticas.....	5
2.1. Objetivo geral.....	5
2.2. Objetivos específicos.....	5
3. Atividades desenvolvidas na empresa para além do projeto proposto:.....	6
4. Introdução:.....	9
4.1. Enquadramento do tema.....	9
4.1.1. Definições/ Terminologias.....	9
4.1.2. A história do “herbal tea”.....	10
4.1.3. Tendências de consumo e inovações no sector das infusões.....	11
4.1.4. Inovações no sector das infusões.....	12
4.1.5. Desenvolvimento de misturas.....	15

4.1.6.	Fatores determinantes no desenvolvimento de tisanas	16
a.	Qualidade da matéria-prima:	16
b.	Qualidade da água:	19
c.	Temperatura da água:	19
d.	Tempo de extração.....	19
e.	Concentração:.....	20
4.1.7.	Análise sensorial, testes de preferência e aceitabilidade	20
4.1.8.	Análise química.....	21
5.	Materiais e Métodos	27
5.1.	Etapas do projeto.....	27
5.1.1.	1ª Fase – Desenvolvimento/criação do produto propriamente dito	28
5.1.1.1.	Identificação de oportunidades de mercado:	28
5.1.1.2.	Formulação:	28
5.1.1.3.	Provas sensoriais de grupo - seleção das fórmulas com maior potencialidade para os testes de preferência e aceitabilidade	29
5.1.1.4.	Provas sensoriais de grupo - estabelecimento dos parâmetros ótimos de preparação das infusões (tempo e temperatura de extração)	30
5.1.1.5.	Composição das fórmulas finais e parâmetros de preparação	31
5.1.2.	2ª Fase - Análise Sensorial, testes de preferência e aceitabilidade:.....	32
5.1.2.1.	Delineamento do questionário aplicado:.....	33
5.1.2.2.	Pré-teste:	34
5.1.2.3.	Metodologia dos dias de prova.....	35

5.1.3. 3ª Fase – Análise química.....	36
5.1.3.1. Metodologia do teste.....	36
6. Resultados e Discussão.....	38
6.1. Testes de Preferência e Aceitabilidade, Análise Sensorial	38
6.1.1. Caracterização dos provadores.....	38
6.1.2. Apreciação das misturas	40
6.1.2.1. Misturas dedicadas à “temática” Natal	41
a. Apreciação global das amostras TN1 e TN2	41
b. Avaliação do aroma, cor, sabor das amostras TN1 e TN2.....	42
c. Aspectos que mais gostaram e que menos gostaram	43
d. Amostra preferida.....	45
e. Aquisição da amostra preferida	46
f. Momento do consumo	46
6.1.2.2. Misturas dedicadas à “temática” Frescura	47
a. Apreciação global das amostras TF1 e TF2.....	47
b. Avaliação do aroma, cor, sabor das amostras TF1 e TF2.....	48
c. Aspectos que mais gostaram e que menos gostaram	49
d. Amostra preferida.....	50
e. Aquisição da amostra preferida.....	51
f. Momento do consumo	52
6.2. Análise química dos compostos voláteis	53

6.2.1	Misturas dedicadas à “temática” Natal	55
a.	Composição das misturas dedicadas à “temática” Natal.....	55
b.	Comparação da composição das amostras TN1 e TN2.....	57
c.	Concentração de alguns compostos	58
6.2.2.	Misturas dedicadas à “temática” Frescura.....	59
a.	Composição das misturas dedicadas à “temática” Frescura	59
b.	Comparação da composição das amostras TF1 e TF2.....	60
c.	Concentração de alguns compostos	62
7.	Conclusões gerais	63
8.	Sugestões para trabalhos futuros	64
9.	Anexos	65
	Anexo A – Tabelas referentes ao Teste de Z para duas proporções	65
10.	Apêndices.....	67
	Apêndice A – Exemplo de folha de prova	67
	Apêndice B – Questionário desenvolvido para a realização dos testes de preferência e aceitabilidade.....	68
	Apêndice C – Tabelas de compostos voláteis identificados nas misturas de ervas aromáticas para infusão.....	74
11.	Bibliografia	78

Lista de Figuras

Figura 1.1. Logótipo Cantinho das Aromáticas	1
Figura 1.2. Etapas de produção de ervas aromáticas no Cantinho das Aromáticas	3
Figura 4.1. PG Tips, Pyramid tea bags	13
Figura 4.2. Tea Brewer	13
Figura 4.3. Cápsulas	14
Figura 4.4. Misturas para infusão com hortícolas	14
Figura 4.5. Xarope de Erva-Príncipe.....	15
Figura 4.6. Infusões de extração a frio	15
Figura 4.7. Diagrama da “seringa modificada”, Método SPME	26
Figura 5.1. Espectro de massa da amostra vs Espectro de massa da base de dados NIST	37
Figura 6.1. Frequência absoluta de provadores por classe etária	38
Figura 6.2. Frequência absoluta de provadores, tendo em conta o nível de escolaridade	39
Figura 6.3. Frequência relativa de provadores, tendo em conta a frequência de consumo de infusões.....	40
Figura 6.4. Apreciação global das amostras TN1 e TN2	42
Figura 6.5. Cor, Aroma e Sabor da amostra TN2	43
Figura 6.6. Cor, Aroma e Sabor da amostra TN1	43
Figura 6.7. “O que gostou mais” e “O que gostou menos” na amostra TN2	44
Figura 6.8. “O que gostou mais” e “O que gostou menos” na amostra TN1	45
Figura 6.9. Aquisição da amostra preferida (amostras TN1 e TN2).....	46
Figura 6.10. Momento de consumo (amostras TN1 e TN2).....	47
Figura 6.11. Apreciação global das amostras TF1 e TF2.....	48
Figura 6.12. Cor, Aroma e Sabor da amostra TF2	48
Figura 6.13. Cor, Aroma e Sabor da amostra TF1	49

Figura 6.14. “O que gostou mais” e “O que gostou menos” na amostra TF2	49
Figura 6.15. “O que gostou mais” e “O que gostou menos” na amostra TF1	50
Figura 6.16. Aquisição da amostra preferida (amostras TF1 e TF2)	52
Figura 6.17. Momento de consumo (amostras TF1 e TF2)	52
Figura 6.18. Cromatograma das misturas do projeto (TN1, TN2, TF1 e TF2)	54
Figura 6.19. Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TN1.....	55
Figura 6.20. Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TN2.....	56
Figura 6.21. Percentagem de cada composto volátil identificado nas amostras TN1 e TN2..	57
Figura 6.22. Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TF1	59
Figura 6.23. Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TF2	60
Figura 6.24. Percentagem de cada composto volátil identificado nas amostras TF1 e TF2 ...	61

Lista de tabelas

Tabela 4.1. Alteração dos óleos essenciais (%) com o aumento da temperatura.....	18
Tabela 4.2. Pesquisa referente aos principais compostos voláteis das ervas aromáticas e especiarias presentes nas misturas dedicadas à época natalícia	21
Tabela 4.3. Pesquisa referente aos principais compostos voláteis das ervas aromáticas presentes nas misturas dedicadas ao tema de frescura	23
Tabela 5.1. Principais fases do projeto.....	27
Tabela 5.2. Combinações de temperatura e tempo testadas	31
Tabela 5.3. Composição das misturas dedicadas à época natalícia.....	31
Tabela 5.4. Composição das misturas dedicadas à sensação de frescura.....	32
Tabela 6.1. Códigos atribuídos às misturas dedicadas à “temática” Natal	40
Tabela 6.2. Códigos atribuídos às misturas dedicadas à “temática” Frescura	41
Tabela 6.3. Amostra Preferida, Frequência relativa (%) (TN1, TN2)	45
Tabela 6.4. Amostra Preferida, Frequência relativa (%) (TF1, TF2).....	51
Tabela 6.5. Concentrações de alguns compostos presentes nas misturas natalícias	58
Tabela 6.6. Concentrações de alguns compostos presentes nas misturas de frescura.....	62
Tabela 9.1. Teste de Z para duas proporções (TN1, TN2).....	65
Tabela 9.2. Teste de Z para duas proporções (TF1, TF2)	66
Tabela 10.1. Identificação dos compostos, respectivas áreas e áreas normalizadas com a “temática” Natal	74
Tabela 10.2. Identificação dos compostos, respectivas áreas e áreas normalizadas com a “temática” Frescura	76

1. Apresentação do Local de Estágio:

O presente projeto de mestrado foi realizado na empresa Cantinho das Aromáticas, produtora de plantas aromáticas e medicinais (PAM) – certificados no modo de produção biológica. O Cantinho das Aromáticas foi criado em 2002, situando-se em Vila Nova de Gaia, na Quinta do Paço. Inicialmente a empresa dedicou-se exclusivamente à atividade viveirista, produzindo cerca de 150 espécies de ervas aromáticas. Mais tarde, em 2007, começa a produzir ervas aromáticas ao ar livre (numa área de cerca de 2,5 hectares), começando a exportar regulamentemente as ervas secas a granel, que essencialmente se destinavam às indústrias de cosmética e farmacêutica. Em 2012 investiu na sua própria marca, passando a comercializar ervas aromáticas em estado seco com a marca Cantinho das Aromáticas para a preparação de infusões e para a sua utilização como condimentos.

A gama de produtos dedicada às infusões é composta pelas seguintes linhas: teabags, lotes reserva, infusões e tisanas. É de destacar que os produtos lote reserva resultaram de um projeto de investigação anteriormente conduzido, sendo constituídos pelas partes mais jovens das plantas, colhidas nos meses quentes de verão. Esta estratégia permite que os produtos desta linha sejam mais ricos em óleos essenciais, tornando-se mais intensos sensorialmente. Além dos seus produtos serem comercializados na sua loja própria e online, encontram-se também presentes em diversos supermercados de produtos biológicos, salas de chá e em lojas de produtos-*gourmet*. Na figura 1.1. encontra-se o logótipo do Cantinho das Aromáticas.



Figura 1.1. Logótipo Cantinho das Aromáticas

1.1. Principais etapas da produção

Durante todo o seu processo (desde as suas práticas agrícolas até ao embalamento dos seus produtos), o Cantinho das Aromáticas procura assegurar a qualidade das suas ervas aromáticas e medicinais, para que estas ofereçam uma excelente experiência sensorial. Na figura 1.2. é possível observar um fluxograma que engloba as etapas gerais de processamento pelas quais as ervas aromáticas passam até serem embaladas.

A empresa produz as PAM em Agricultura Biológica, não sendo utilizado qualquer tipo de produto químico de síntese. Este tipo de produção permite uma maior segurança para o consumidor, no que se refere à ausência de químicos de síntese no produto final.

A colheita inicia-se na primavera, durante o período de floração, sendo considerado um período ótimo quanto à concentração de compostos voláteis (Ayanoglu, Arslan & Hatay, 2005; Müller-Riebau, Berger, Yegen, & Cakir, 1997). Geralmente, é possível realizar uma média de quatro cortes anuais por cada espécie. Uma vez que existe alguma evidência científica de que o *stress* hídrico contribui para o aumento da percentagem de óleos essenciais presentes (Khalid, 2006), a rega é cortada 2 semanas antes da colheita/corte. Alguma investigação aponta ainda que a melhor altura do dia para realizar a colheita é o período que inclui as primeiras horas do dia ou o final da tarde (Cunha, Teixeira, Silva, & Roque, 2007; Ayanoglu, Arslan & Hatay, 2005). Por essa razão o Cantinho das Aromáticas realiza as suas colheitas durante a manhã. Esta estratégia permite obter ervas aromáticas com maior teor em óleos essenciais.

De forma a prolongar o tempo de prateleira, as ervas aromáticas e medicinais são desidratadas através de secagem com ar quente. O tempo entre a colheita e secagem é o menor possível de forma evitar a ocorrência de fenómenos de fermentação. A secagem é realizada a temperaturas inferiores a 50 °C, de acordo com fundamentação científica, já que temperaturas superiores conduzem a uma diminuição dos compostos voláteis (Filho et al., 2006; Muller & Heindl, 2006). De seguida as ervas são selecionadas e, regra geral, trituradas para obtenção de dimensões inferiores, facilitando a concretização das misturas para infusão. Para eliminar potenciais parasitas que tenham sobrevivido às temperaturas de secagem, as ervas passam por uma etapa de congelação. Depois são armazenadas em caixas estanques, impedido a entrada de luz e humidade sendo ainda compatíveis com a atividade alimentar até serem embaladas e comercializadas. O presente protocolo de trabalho já se encontrava a vigorar na empresa antes de ter iniciado este projeto.

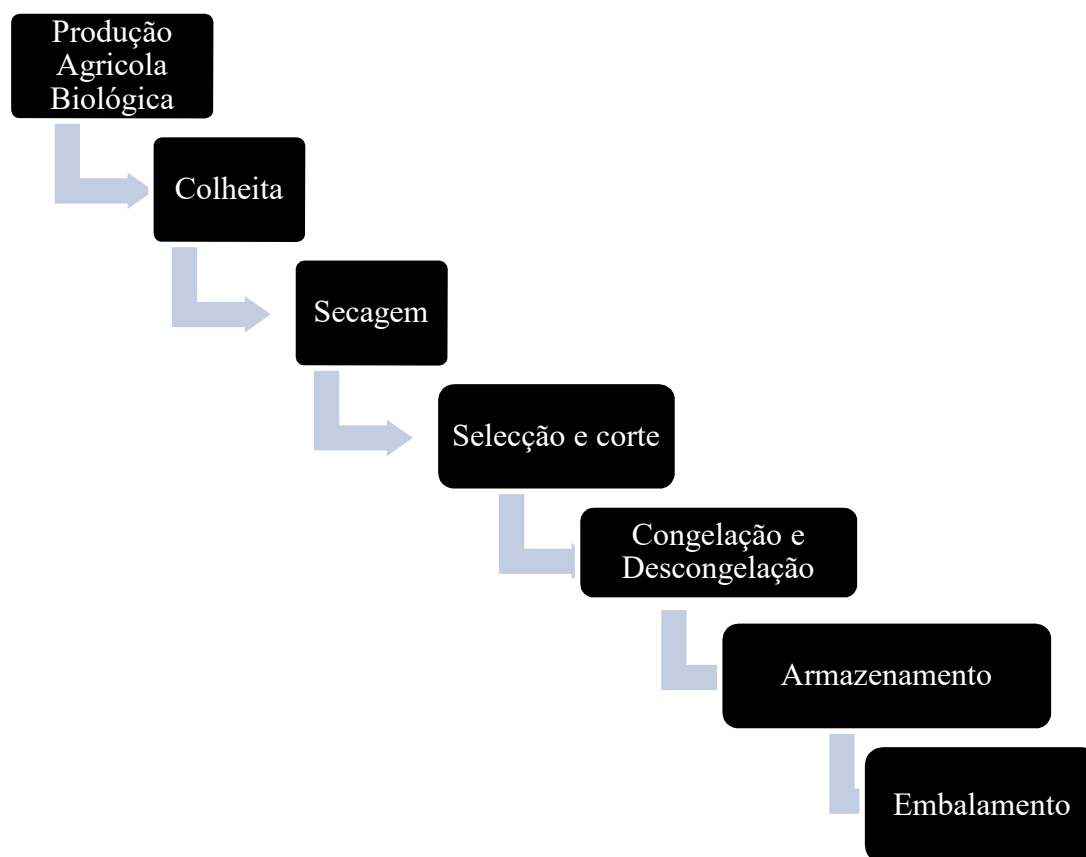


Figura 1.2. Etapas de Produção de ervas aromáticas no Cantinho das Aromáticas

1.2. Certificação

Como já referido anteriormente, o Cantinho das Aromáticas produz a suas plantas de forma biológica, sendo certificado desde 2005 neste modo de produção pela ECOCERT Portugal Unipessoal, Lda. para a produção de PAM frescas e secas, bem como para toda a produção de plantas de viveiro, envasadas e em alvéolos. Esta certificação garante a qualidade dos produtos, permitindo a ostentação da menção “produto de agricultura biológica” (Ecocert, 2016). O Cantinho das Aromáticas também tem certificação GLOBAL G.A.P relativa às boas práticas de agricultura tais como: a segurança e rastreabilidade alimentar, a utilização de métodos produtivos sustentáveis e a segurança e bem-estar dos funcionários (GLOBALG.A.P., 2016). Os seus produtos também são certificados como Kosher Parve, encontrando-se sob a supervisão do Rabino da Sinagoga Porto.

1.3. Prémios e reconhecimento dos produtos

A qualidade dos seus produtos tem vindo a ser reconhecida, particularmente em concursos como o Great Taste Awards e o Concurso Nacional de Sal, Ervas Aromáticas e Condimentos. As infusões além de serem avaliadas quanto à sua cor, sabor e aroma são também avaliadas quanto ao *pot-pourri* da mistura ou da erva aromática isolada. Em ambos concursos, as infusões são preparadas com as indicações dadas pela empresa em concurso, sendo avaliadas por um júri experiente. É importante realçar que os Great Taste Awards são considerados os “óscars” dos produtos alimentares, atendendo a que concorrem diversos produtores a nível internacional. Ao ganhar prémios nestes concursos, o Cantinho das Aromáticas garante ao consumidor a qualidade e excelência dos seus produtos.

1.4. Voluntariado

Desde de 2009 o Cantinho das Aromáticas possui um programa de voluntariado, através do qual fornece formação e conhecimento sobre agricultura biológica e produção de PAM a quem desejar participar neste programa.

2. Objetivos do Trabalho de Mestrado/Estágio no Cantinho das Aromáticas

2.1. Objetivo geral

O principal objetivo do presente trabalho de mestrado foi o desenvolvimento de duas misturas de ervas aromáticas para a preparação de infusões, tendo em conta as duas “temáticas” a que se destinam: natalícia e a de frescura.

2.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos do projeto foram:

- Integração numa equipa de trabalho de uma empresa produtora de ervas aromáticas, permitindo o contacto com questões e problemáticas inerentes à produção de tisanas;
- Participação em diferentes etapas do desenvolvimento de novos produtos, desde a fase experimental de formulação de misturas de ervas aromáticas para infusão até à realização de testes sensoriais com consumidores;
- Caracterização química das misturas ervas aromáticas testadas nos testes sensoriais no que se refere aos seus principais compostos voláteis;
- Contacto com diferentes áreas relacionadas com a atividade da empresa como a promoção/degustação de infusões.

3. Atividades desenvolvidas na empresa para além do projeto proposto:

Dado que um dos objetivos do estágio realizado foi a integração no quotidiano da empresa, foi possível participar/colaborar em diversas atividades para além do projeto de mestrado. Sendo essas atividades:

a. **A preparação e condução de provas de infusões de ervas aromáticas junto da equipa do Cantinho das Aromáticas, de modo a selecionar lotes de fornecedores para determinar a sua aquisição, assim como assegurar a qualidade dos produtos.**

Nestas provas eram comparadas infusões de ervas de diferentes fornecedores bem como amostras produzidas pelo Cantinho das Aromáticas. As infusões eram preparadas com os mesmos parâmetros de extração (tempo em que as ervas permanecem em infusão e temperatura da água), seguindo as indicações presentes nas embalagens. As provas eram cegas, sendo desconhecida a origem das amostras por parte dos participantes.

Uma vez que não é necessária uma avaliação extensa dos resultados, mas apenas determinar se existia ou não interesse na aquisição do lote, optou-se por aplicar uma escala de 5 pontos. Era solicitado aos provadores que classificassem numa escala de 1 a 5 as infusões, tendo em conta a sua preferência (1 para menor preferência e 5 para maior preferência).

No final da prova existia também um espaço para que os provadores comentassem as suas apreciações. Esses comentários eram registados. Após terminar a prova, os resultados eram analisados e divulgados à equipa do Cantinho das Aromáticas.

Estas provas tiveram como provadores os colaboradores da Empresa. Apesar do grupo ser constituído por um número reduzido de participantes (geralmente 5 ou 6 pessoas, contando também com a participação de estagiárias), os participantes são consumidores habituais de infusões e experientes neste tipo de avaliação, necessária para a sua atividade.

b. **A preparação e condução de provas sensoriais de infusões, tendo como objetivo estabelecer os parâmetros de preparação, para inclusão nas embalagens de novas referências e atualização de algumas referências já existentes.**

Para o lançamento de duas novas referências de saquetas (camomila e tília) foi necessário estabelecer o tempo de extração e temperatura da água, para inclusão nas sugestões de preparação nas embalagens. Por essa razão foram realizadas provas sensoriais, nas quais foram avaliadas infusões preparadas com diferentes combinações de tempo e temperatura de extração. À semelhança das provas de fornecedores foi

utilizada uma escala de 5 pontos, sendo pedido aos provadores que classificassem quanto à sua preferência (1 para menor preferência e 5 para maior preferência). Estas provas contaram também com a participação da equipa do Cantinho das Aromáticas, assim como de alguns consumidores habituais de infusões de ervas como provadores (um total de 10 provadores). No final da prova, o provador era encorajado a comentar as suas observações. Apesar de não ter sido possível realizar um estudo com maior número de provadores, estes eram consumidores habituais de infusões, na sua maioria habituados a este tipo de avaliações.

Como já referido anteriormente, alguns produtos do Cantinho das Aromáticas têm vindo a ser reconhecidos em concursos. No Great Taste Awards, além de serem atribuídas classificações aos produtos (quando é considerado merecedor de prémio), é também transmitido aos produtores as observações mais relevantes do júri que avalia as infusões. Isto permite à empresa encontrar pontos de melhoria das suas infusões. Tendo como base essas indicações foram realizadas provas internas com a equipa da empresa, utilizando diferentes combinações dos parâmetros de preparação (concentração de ervas, temperatura da água e tempo que permanece em infusão). Estas provas foram conduzidas seguindo o mesmo procedimento das anteriormente mencionadas.

c. Ajustamento de fórmulas existentes na linha de misturas de ervas aromáticas para infusão quanto à proporção dos seus ingredientes.

Estas provas também tiveram como base as apreciações do júri do Great Taste Awards, surgindo potenciais pontos de melhoria do produto. Algumas dessas observações indicavam que a alteração da concentração de alguns ingredientes poderia potenciar sensorialmente duas referências de misturas de ervas aromáticas para infusão, já anteriormente produzidas antes de iniciar o meu estágio. Por essa razão foram conduzidas provas sensoriais em que foram testadas variações das fórmulas originais (variando a concentração de determinados ingredientes) comparativamente com as fórmulas produzidas. Nestas provas era dado a conhecer aos provadores a composição das fórmulas, mas sendo desconhecida a concentração dos ingredientes em cada uma das amostras. Uma vez que se pretendia que o provador fosse capaz de identificar a sua infusão preferida tendo em conta determinados requisitos (quanto à cor, aroma e sabor), nesta prova apenas participaram elementos da equipa do Cantinho das Aromáticas. As infusões eram preparadas com os mesmos parâmetros de extração (tempo em que ervas

permanecem em infusão e temperatura da água), para ser possível comparar as infusões. À semelhança das provas anteriormente mencionadas, era solicitado aos provadores que classificassem numa escala de 5 pontos as suas preferências. No final também era encorajada a partilha das suas observações oralmente.

d. A seleção de amostras de lotes e condução de provas de infusões com o objetivo de eleger aqueles com maior potencialidade para a sua participação no Great Taste Awards e no Concurso Nacional de Sal, Ervas Aromáticas e Condimentos.

Para ser possível selecionar os lotes a enviar para os concursos nacional e internacional foi necessário realizar provas de análise sensorial. Para estas provas foram avaliadas amostras de todos os lotes das referências que se esperava virem a participar nos concursos. Estas provas tiveram como participantes elementos da equipa Cantinho das Aromáticas, visto estarem familiarizados com os requisitos de qualidade e exigência que este tipo de concursos exigem. À semelhança de outras provas, os participantes tiveram de classificar as diferentes infusões numa escala de 5 pontos (sendo que 1 correspondia a uma infusão de baixa qualidade e 5 de excelente qualidade). Esta era uma avaliação global da infusão, sendo pedido aos provadores que tivessem em conta os parâmetros de exigência dos concursos quanto ao aroma, cor e sabor. Para além da condução e preparação das provas também recolhi e preparei o material enviado para os concursos.

e. A participação em ações promocionais e de degustação de infusões, tisanas e condimentos.

f. Auxílio em atividades diárias da empresa tais como o acompanhamento de voluntários durante a realização de tarefas de colheita e seleção de ervas aromáticas.

4. Introdução:

4.1. Enquadramento do tema

O presente projeto de mestrado teve como tema o desenvolvimento de misturas de ervas aromáticas para infusão. Alguns dos aspetos em discussão são as definições e terminologias relacionadas com o presente tema.

4.1.1. Definições/ Terminologias

O termo “chá” é aplicado comumente pelo consumidor a todas as bebidas obtidas através da imersão em água quente de flores/folhas/rizomas independentemente da planta, no entanto esta definição não se encontra totalmente correta. De acordo com a literatura encontrada, o termo “chá” refere-se exclusivamente à utilização de partes da espécie *Camellia sinensis* para a preparação de uma bebida (Caballero, Trugo, & Finglas, 2003; Schapira, Schapira, & Schapira, 1996; German Tea Association & German Herbal Tea Association, 1989; Mayo Clinic & University of California Los Angeles, 2002). As restantes preparações obtidas através do recurso a outras plantas, mas com o mesmo fim, são designadas por “tisanas” (German Tea Association & German Herbal Tea Association, 1989; Lasekan & Lasekan, 2012), o equivalente ao termo inglês “*herbal tea*” (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010; Zhao, Deng, Chen, & Li, 2013).

A palavra “tisana” deriva do grego *ptisan* que significa “cevada esmagada”, originalmente designando uma bebida obtida através de água e cevada triturada (Mars, 2006). Mais tarde, esta palavra passou a intitular um “chá de ervas” sem cafeína com fins terapêuticos (Mars, 2006). Atualmente, segundo o *European Committee on Herbal Medicinal Plants* e a *Pharmacopée française*, as tisanas são preparações aquosas obtidas a partir de uma ou mais ervas aromáticas recorrendo aos processos de decocção, infusão ou maceração (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010; Pharmacopée Française, 2013). Outras fontes indicam que uma tisana é uma bebida obtida através da imersão de ervas-aromáticas, flores, especiarias ou outros elementos botânicos em água quente (Lasekan & Lasekan, 2012; Mayo Clinic & University of California Los Angeles, 2002; Zhao, Deng, Chen, & Li, 2013). No entanto, a possibilidade da inclusão de partes da planta do chá parece não estar completamente rejeitada. De acordo com a *German Tea Association*, as tisanas são compostas por misturas de diferentes ervas-aromáticas que poderão ainda englobar partes da planta do chá, quando não forem adicionados a estas quaisquer *flavor* (*German-Tea-Association & German-Herbal-Tea-Association, 1989*).

Além da sua composição relativamente ao tipo de plantas, um fator importante a ter em conta na formulação de tisanas são as partes das plantas a serem utilizadas, uma vez que podem requerer métodos diferentes de extração dos compostos (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010) devido à rigidez das paredes celulares. Normalmente, o processo de infusão é mais adequado para folhas, flores e outras partes delicadas da planta, enquanto a maceração e a decocção são métodos mais apropriados para raízes, rizomas e cascas (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010). Tradicionalmente o processo de infusão consiste no ato de verter água fervente sobre uma ou mais plantas, permanecendo num determinado período de tempo em infusão, normalmente 5 a 15 minutos (Cunha, Silva, & Roque, 2006; European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010). É possível denominar a preparação aquosa obtida através deste processo como infusão (Cunha, Silva & Roque, 2006; European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010). A maceração é um método de preparação de uma bebida através da imersão de partes de ervas aromáticas com granulometria reduzida em água à temperatura ambiente (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010; Pharmacopée Française, 2013). As ervas permanecem durante um determinado período de tempo em contacto com a água até serem coadas, usualmente por 30 minutos (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010; Pharmacopée Française, 2013). Ao preparado obtido chama-se macerado (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010). Quando existe um ligeiro aquecimento do líquido em relação à temperatura ambiente, mas a temperaturas não-ferventes, a metodologia passa a designar-se por “digestão” (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010). Relativamente à decocção, as suas preparações resultam da “cocção” das ervas em água durante um período de tempo, dependendo da parte da planta e do seu tamanho, permanece habitualmente de 15 a 30 minutos em imersão (European Committee on Herbal Medicinal Products, 2010; Pharmacopée Française, 2013). Como já referido anteriormente, as misturas de ervas aromáticas estudadas na presente tese foram desenvolvidas tendo como metodologia a infusão.

De forma a diferenciar comercialmente as suas linhas de produtos para infusão, o Cantinho das Aromáticas atribuiu diferentes nomenclaturas aos seus produtos. O termo “infusão” designa a linha de produtos compostos por uma única erva aromática e o termo “tisana” refere-se a produtos constituídos por misturas de duas ou mais ervas aromáticas.

4.1.2. A história do “herbal tea”

A história de preparações à base de ervas aromáticas é ancestral ao aparecimento do chá e do café e remonta à Era Primitiva (Schapira, Schapira & Shapira., 1996). O homem procurava

alimentos como: folhas, frutas, sementes, raízes e ervas com *flavors* doces, tais como a anis, manjerona e canela para comer (Schapira, Schapira & Shapira., 1996). O homem misturava-as com água, criando os primeiros “chás de ervas”. A partir das ervas colhidas, o Homem fazia também unguentos para sarar as suas feridas, pensando que quanto mais aromáticas as ervas fossem, mais propriedades benéficas conteriam. Nasce aqui a ideia de que algumas ervas-aromáticas contêm propriedades medicinais, sendo benéficas para combater diversas maleitas (Schapira, Schapira & Shapira., 1996).

Ao longo da história da medicina, existem várias referências da utilização de ervas na formulação de remédios, existindo também uma preocupação em transmitir o conhecimento obtido às gerações futuras (Schapira, Schapira & Shapira., 1996). O registo mais antigo na história do homem é um documento escrito pelo Egípcios, que data por volta de 1550 a.c. e contém mais de 876 receitas para maleitas (Corwin, Zahorik, & Hurlbutt, 2009). É relatado na história que Hipócrates, “o pai da medicina”, estudou com sacerdotes-egípcios e que os conteúdos dos seus documentos fazem referência a mais de 250 plantas e ervas medicinais (Corwin, Zahorik, & Hurlbutt, 2009).

Atualmente, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população africana continua a recorrer a ervas ou a outras matérias semelhantes para o tratamento de doenças (Tilburt & Kaptchuk, n.d). A nível global, o mercado anual deste tipo de produtos atinge cerca de 60 biliões de dólares (Tilburt & Kaptchuk, n.d.). Em debates de saúde a nível mundial, o recurso à medicina tradicional tem surgido como uma forma promissora de combate a doenças (Tilburt & Kaptchuk, n.d.). Países como a Índia, China, Estados Unidos da América, Nigéria e a OMS têm investido neste campo de investigação (Tilburt & Kaptchuk, n.d.).

4.1.3. Tendências de consumo e inovações no sector das infusões

Os consumidores europeus têm demonstrado uma preocupação crescente na procura de alimentos saudáveis, “naturais” e “autênticos” no mercado (CBI, n.d.), constituindo desta forma uma excelente oportunidade para o sector dos chás e tisanas. O reconhecimento geral dos efeitos nocivos do consumo de bebidas refrigerantes tem conduzido os consumidores a recorrer ao chá e outras bebidas semelhantes como alternativa a bebidas carbonatadas (Newswire, 2014). A existência de algumas propriedades medicinais associadas ao consumo de determinadas plantas tem também contribuindo pelo aumento da procura deste tipo de produtos a nível mundial (Newswire, 2014). Em Portugal, em 2015 o sector do chá apresentou uma performance positiva,

especialmente no que se refere ao canal HORECA (hotéis, restaurantes e cafés), tendo um aumento de 3% em termos de volume do retalho (Euromonitor, 2016). Segundo o *Euromonitor Internacional*, este crescimento deve-se ao investimento da indústria no desenvolvimento de produtos inovadores, assim como à introdução de novos sabores, capazes de satisfazer palatos sofisticados (Euromonitor, 2016).

Além do seu posicionamento saudável, este tipo de produtos tem potencialidade noutros segmentos de mercado. Segundo o Relatório de tendências da Portugal Foods 2015, relativo à categoria de bebidas quentes, indivíduos que apresentem interesse no que se refere a cuidados de beleza e corpo, têm vindo a demonstrar interesse em chás e infusões devido à presença de antioxidantes e outras substâncias de anti-envelhecimento (PortugalFoods, 2015). O Relatório da Portugal Foods indica ainda que os consumidores procuram tendencialmente novos sabores e novas variedades, para além dos tradicionais chás preto e verde (PortugalFoods, 2015). Também foi possível detetar uma tendência do mercado europeu, em criar alternativas apelativas e mais saudáveis aos refrigerantes, investindo no desenvolvimento de produtos, como infusões de frutos e ervas a frio (PortugalFoods, 2015). É possível observar também, um aumento da oferta de produtos *loose leafs* (folha inteira) e de produtos caracterizados como *premium* (de alta qualidade) (PortugalFoods, 2015).

4.1.4. Inovações no sector das infusões

Como referido anteriormente, uma das razões que tem proporcionado o crescimento do sector do chá e infusões de ervas são os constantes esforços da Indústria no desenvolvimento de produtos inovadores que satisfaçam as necessidades dos consumidores. De seguida serão destacadas algumas inovações presentes no mercado nacional e internacional.

Pyramid tea bags: Saquetas em forma de pirâmide (Figura 4.1.) desenvolvidas na década de 90 pela PG Tips®, uma empresa de chá inglesa. Este novo formato permite que as folhas tenham mais espaço para circular dentro da saqueta, procurando simular as mesmas condições que uma infusão preparada de forma tradicional, com bule (PGTips, n.d.). Um estudo conduzido pela Unilever UK Ltd® de 2013, prova que o processo de infusão é mais eficiente com saquetas de pirâmide relativamente a saquetas com formato redondo (ASA, 2014). Diversas marcas de chá e infusões de ervas têm passado a comercializar as suas saquetas com este formato.



Figura 4.1. PG Tips, Pyramid tea bags (PGTips)

Teabrewer:

Embalagem desenvolvida pela empresa dinamarquesa *Grower's Cup*® que permite a preparação do infundido dentro da própria embalagem (figura 4.2.). Desenhada a pensar em *tea lovers* e na sua comodidade (Grower'sCup, n.d.). Possibilita a obtenção de uma infusão de qualidade, uma vez que garante o contacto a 100% entre folhas de chá e a água quente (Grower'sCup, n.d.). Contrariamente às saquetas, possibilita a utilização de folhas inteiras, proporcionando um produto de excelência (Grower'sCup, n.d.). O Teabrewer pode ser reutilizável, sendo permitido o enchimento com novas ervas após a sua higienização (Grower'sCup, n.d.).

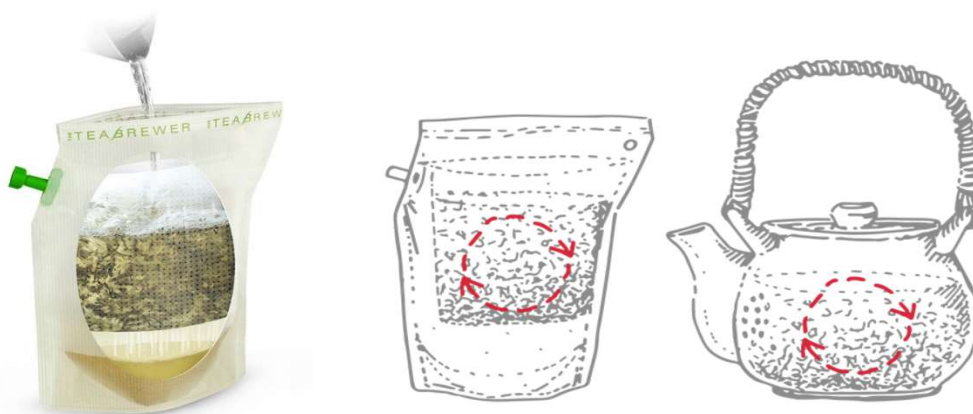


Figura 4.2. Tea Brewer (Grower'sCup)

Cápsulas: A pensar também na comodidade e conveniência dos consumidores, à semelhança à indústria do café, várias marcas de chá e tisanas investiram no desenvolvimento de cápsulas (figura 4.3.) para preparação rápida de infusões.



Figura 4.3. Cápsulas

Novos ingredientes:

Uma inovação do mercado é a utilização de novos ingredientes para a formulação de misturas para infusão, tais como as misturas da marca *Numi*®, que incluem na sua composição hortícolas orgânicos, ervas silvestres, chá descafeinado e especiarias (figura 4.4.). Esta marca produz *blends* inovadoras, inspiradas em receitas de culinária de todo o mundo (Numi, n.d.).



Figura 4.4. Misturas para infusão com hortícolas (Numi)

Xarope com Ervas aromáticas:

O tradicional xarope constitui uma forma inovadora na utilização de ervas aromáticas para a preparação de bebidas, como é o caso do Xarope com a marca Quiosque de Refresco®. É um produto único neste campo, uma vez que é composto por produtos naturais, sem a adição de quaisquer corantes ou aromas artificiais (Sabores Santa Clara, n.d.). Inicialmente

desenvolvido para sabores tradicionais, como a groselha e o capilé, passou mais tarde pelas ervas aromáticas tomilho limão e erva-príncipe (figura 4.5.).



Figura 4.5. Xarope de Erva-Príncipe (Sabores Santa Clara)

Infusões de extração a frio:

Diversas marcas do sector têm vindo a criar novas alternativas mais saudáveis aos refrigerantes. Por essa razão desenvolveram novas infusões cuja extração é realizada com água fria como por exemplo a *Tetty*® e a *Lipton*® (figura 4.6.).



Figura 4.6. Infusões de extração a frio (Lipton.; Tetley)

4.1.5. Desenvolvimento de misturas

Como referido anteriormente, os consumidores têm apresentado uma tendência pela procura de novos sabores para este tipo de bebidas quentes. A formulação de novas *blends*, com novos ingredientes, tem sido uma das respostas do mercado a esta tendência. Surge aqui uma oportunidade para inovar. Além das características sensoriais, as propriedades medicinais poderão ser um fator de interesse no desenvolvimento de misturas, como, por exemplo, desenvolvimento de misturas que transmitam relaxamento/tranquilidade. O presente projeto focou-se nas características sensoriais no processo de desenvolvimento de misturas de ervas aromáticas para infusão.

Alguns fatores podem interferir com as suas características sensoriais das infusões, sendo necessário serem tidos em conta na criação de misturas de ervas aromáticas para infusão.

4.1.6. Fatores determinantes no desenvolvimento de tisanas

Diversos parâmetros podem influenciar o produto final obtido no processo de infusão, principalmente no que se refere à composição e concentração de compostos voláteis, determinantes no *flavor* das infusões. Os fatores essenciais que influenciam o resultado final de uma infusão são: qualidade da água, qualidade da matéria-prima, temperatura da água, tempo de extração e a sua concentração.

a. Qualidade da matéria-prima:

A qualidade das ervas-aromáticas depende de vários fatores, tais como: a variedade da planta, as mudanças climáticas, as práticas agrícolas, o solo, os métodos de processamento e secagem, armazenagem e embalagem (Caballero, Trugo & Finglas, 2003; Infante, Rubio, Contador, & Moreno, 2010). A forma de execução destas etapas é determinante relativamente ao teor de óleos essenciais (compostos voláteis) presentes nas ervas, responsáveis pelo aroma (Caballero, Trugo & Finglas, 2003; Lasekan & Lasekan, 2012; Özcan, Arslan, & Ünver, 2005) e pelo *flavor* das ervas (Lasekan & Lasekan, 2012; Özcan, Arslan, & Ünver, 2005), refletindo-se por sua vez sobre a infusão. A criação de estratégias de otimização e controlo da concentração destes compostos é fundamental para a obtenção de uma matéria-prima de qualidade.

A altura da colheita das ervas aromáticas geralmente influencia o tipo e a quantidade dos constituintes presentes nas ervas, variando de acordo com a altura do ano e altura do dia em que são recolhidas (Cunha, Teixeira, Silva & Roque, 2007; Ayanoglu, Arslan & Hatay 2005). Usualmente as colheitas realizadas nas primeiras horas do dia são mais ricas em óleos essenciais (Cunha, Teixeira, Silva & Roque, 2007), assim como colheitas realizadas ao final da tarde (Filiz Ayanoglu, 2005). Um estudo de Ayanoglu, Arslan e Hatay relativo a colheitas de *Melissa officinalis*, observou que quando estas são efetuadas antes do início da floração e durante essa fase apresentam maior teor em óleos essenciais (Ayanoglu, Arslan & Hatay, 2005), constituindo uma excelente estratégia para o produtor. Outra investigação realizada sobre teor de compostos voláteis em *Thymbra spicata L. var. spicata (Labiatae)* e *Satureja thymbra L. (Labiatae)* encontrou uma maior concentração de compostos voláteis em colheitas realizadas no início da floração (Müller-Riebau, Berger, Yegen & Cakir, 1997). A idade da planta também influencia a composição dos óleos essenciais presentes nas suas folhas (Cunha, Teixeira, Silva & Roque, 2007). Por exemplo, no caso da *Mentha x piperita*, as suas folhas quando jovens são ricas em pulegona. No entanto, à medida que as folhas vão envelhecendo, este constituinte vai sendo substituído por mentona e metol (Cunha, Teixeira, Silva & Roque, 2007).

Indícios sugerem ainda que, além da composição em óleos essenciais variar com a idade vegetativa das folhas, o mesmo acontece com sua constituição em polifenóis relativamente à *Camellia sinensis*, em que as folhas mais jovens demonstram conter uma maior concentração em polifenóis (Forrest & Bendall, 1968). Contudo, o estudo mencionado apenas se refere à planta do chá.

Para manter a qualidade das ervas aromáticas por longos períodos de tempo, estas devem passar por um processo de desidratação (Infante, Rubio, Contador & Moreno, 2010), de modo a inativar os sistemas enzimáticos da planta (Cunha, Silva & Roque, 2006). Geralmente, a metodologia mais utilizada pela indústria é a secagem por ar quente, atingindo temperaturas entre os 20°C e 40°C para folhas e flores, de modo a que a matéria-prima contenha uma quantidade de água inferior a 10% (Cunha, Silva & Roque, 2006). Alguma investigação indica que as temperaturas utilizadas deverão ser inferiores a 50°C (Filho et al., 2006). A metodologia a ser utilizada deverá procurar minimizar a perda de compostos voláteis, uma vez que estes são sensíveis a altas temperaturas (Caballero, Trugo & Finglas, 2003; Cunha, Silva & Roque, 2006). Na tabela 4.1. (Caballero, Trugo & Finglas, 2003) é possível observar as alterações da concentração de compostos voláteis, com o aumento da temperatura de secagem.

A utilização de altas temperaturas em processos de secagem diminui a qualidade dos produtos (Özcan, Arslan & Ünver, 2005). Os processos de secagem podem causar alterações indesejáveis à aparência das ervas, assim como originar modificações relativamente à cor, flavor e textura (Özcan, Arslan & Ünver, 2005). O Cantinho das Aromáticas utiliza o método de secagem por ar quente para diminuir a atividade da água e prolongar o tempo de prateleira dos seus produtos.

Tabela 4.1.-Alteração dos óleos essenciais (%)^a com o aumento da temperatura (Caballero, Trugo & Finglas, 2003)

Planta	Temperatura (°C)						
	40	50	60	70	80	90	100
<i>Manjeriçã</i>	1.0	0.7	0.7	0.7	0.3	0.3	0.1
<i>Manjerona</i>	1.7	1.3	1.3	1.0	1.0	0.7	0.5
<i>Alecrim</i>	2.3	2.0	2.0	1.7	1.7	1.0	0.3
<i>Salva</i>	2.0	1.7	1.0	0.5	0.5	0.4	0.3
<i>Segurelha</i>	1.3	1.0	0.8	0.7	0.5	0.03	<0,01
<i>Estragão</i>	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1
<i>Tomilho</i>	1.0	1.0	1.0	0.3	0.3	0.2	<0,01

^a Percentagem de óleos essenciais expresso por grama de matéria prima seca

Alguns estudos indicam que a etapa de trituração/ corte das ervas também poderá ter um papel importante relativamente ao teor de óleos essenciais (Vidović et al., 2013). Uma vez que os óleos essenciais sintetizados são armazenados em estruturas como as células secretórias, canais e células epidérmicas, o corte poderá destruí-las, conduzindo à diminuição dos óleos essenciais (Vidović et al., 2013). Um estudo comparativo sobre *Melissa officinalis* triturada com corte fino e matéria não triturada observou um menor teor em óleos essenciais na matéria com corte fino (Vidović et al., 2013). Por essa razão, a dimensão das partículas deverá ser considerada no desenvolvimento dos produtos.

Após o processamento, é imperativo controlar possíveis fatores, capazes de alterar a composição da planta na fase de armazenamento/conservação (Cunha, Silva & Roque, 2006). Entre esses fatores, encontram-se a luz, humidade e temperatura (Cunha, Silva & Roque, 2006).

As ervas deverão ser protegidas de raios de luz, atendendo a que a sua incidência direta provoca uma descoloração rápida das folhas e flores, devido à sua ação sobre os pigmentos clorofilos (Cunha, Silva & Roque, 2006; Cunha, Teixeira, Silva & Roque, 2007). A luz tem também, a capacidade de promover alterações de alguns dos constituintes (Cunha, Silva & Roque, 2006). Esta informação, fundamenta a vantagem da utilização de embalagens baças na comercialização deste tipo de produtos. Esta estratégia impede a penetração de luz e, consequentemente, a oxidação das ervas. Esta estratégia foi também adotada pelo Cantinho das Aromáticas.

A humidade facilita a atividade enzimática da planta e promove o crescimento de fungos, bolores, leveduras e outros microrganismos, tendo a capacidade de afetar a qualidade da

matéria-prima para infusões (Cunha, Silva & Roque, 2006). Por essa razão, no armazenamento de ervas aromáticas deverão ser utilizados locais com humidade reduzida.

Como já mencionado anteriormente, a temperatura é um fator determinante, no que se refere à composição em óleos essenciais, devendo as ervas ser armazenadas a temperaturas inferiores a 20°C (Cunha, Silva & Roque, 2006).

Relativamente à qualidade da matéria-prima, é ainda imperativa a existência de ações preventivas e de medidas de controlo, de modo a evitar a ocorrência de microrganismos, fertilizantes químicos e metais pesados em níveis prejudiciais à saúde do consumidor (Cunha, Silva & Roque, 2006).

b. Qualidade da água:

Águas com alta concentração em minerais metálicos, como o cálcio, magnésio e cloro, contêm um carácter duro refletindo-se no sabor da água (Welton, 2009), tornando-se assim um fator determinante quanto ao sabor da infusão. A presença destes minerais na preparação poderão “mascarar” os reais atributos do chá ao conferir-lhe um sabor amargo (Astill, Birch, Dacombe, Humphrey, & Martin, 2001), sendo que o mesmo poderá acontecer a infusões de ervas aromáticas. Diversos estudos têm recorrido ao uso de água filtrada para a realização de estudos sensoriais (Infante, Rubio, Contador & Moreno, 2010; Jeehyun & Chambers, 2007).

c. Temperatura da água:

Como já referenciado, a concentração de óleos essenciais responsáveis pelo aroma e *flavor*, varia com a temperatura. Geralmente, o aumento da temperatura conduz à diminuição destes compostos, sendo que o mesmo acontece na fase de preparação das infusões, afetando-as sensorialmente (Xia, Shi, & Wan, 2006), sugerindo assim, a necessidade de utilizar temperaturas inferiores a 100°C. O recurso a altas temperaturas de infusão, aumenta também a extração de proteínas e pectinas, levando à formação de um “creme” no topo da infusão, degradando a qualidade sensorial da bebida (Xia, Shi, & Wan, 2006).

d. Tempo de extração

O tempo de extração é o tempo em que as ervas permanecem em infusão na água, até o preparado ser destilado, ou seja, é o período de tempo em que os óleos essenciais são extraídos para o infundido. A literatura indica que este período pode variar entre 5 a 15 minutos (Cunha, Silva & Roque, 2006).

e. Concentração:

A concentração é a razão entre a quantidade de ervas aromáticas secas e o volume de água utilizado para a preparação das tisanas. Uma vez que o *flavor* e o aroma das infusões depende da concentração de óleos essenciais, conseqüentemente dependerá da concentração do preparado.

4.1.7. Análise sensorial, testes de preferência e aceitabilidade

A análise sensorial é uma ciência que mede, avalia e interpreta as reações a determinadas características de alimentos e materiais, à medida que eles são percebidos pelos sentidos humanos de olfato, visão, tato, paladar e ouvido (Stone, Bleibaum, & Thomas, 2012). Isto torna esta metodologia como uma ferramenta imprescindível para o desenvolvimento de novos produtos alimentares, assim como para a sua otimização (Stone, Bleibaum, & Thomas, 2012). Por essa razão, a análise sensorial fez parte da estratégia de desenvolvimento de novas tisanas assim como da determinação da sua aceitabilidade e preferência junto do consumidor.

Como referido anteriormente, o presente projeto tinha como objetivo o desenvolvimento de novas misturas de ervas aromáticas para a preparação de infusões e estudar a sua aceitabilidade e preferência junto do consumidor. Por essa razão, foram aplicados testes sensoriais de modo a determinar se os produtos apresentavam potencialidade tendo em conta as suas características sensoriais, assim como determinar quais as misturas/infusões preferidas.

Por definição, os testes de aceitabilidade e preferência têm como objetivo primário avaliar a resposta pessoal de potenciais consumidores em relação a um produto, ideia de produto ou a uma característica específica do produto (Meilgaard, Civille, & Carr, 2007). Os testes de aceitação medem a aceitabilidade ou *liking* do consumidor face a um produto, através da sua classificação numa escala numerada ou com palavras (Meilgaard, Civille, & Carr, 2007; Moskowitz, Beckley, & Resurreccion, 2006). Este tipo de testes não requerem a comparação de um produto com o outro produto (Moskowitz, Beckley, & Resurreccion, 2006). Os testes de preferência medem a preferência do consumidor por um produto em detrimento a outro (Moskowitz, Beckley, & Resurreccion, 2006). É solicitado ao consumidor que escolha um produto de grupo de amostras (Moskowitz, Beckley, & Resurreccion, 2006). Os testes de aceitabilidade e preferência contêm geralmente 50 a 100 participantes (Moskowitz, Beckley, & Resurreccion, 2006).

Ao realizar uma breve pesquisa foi possível encontrar um estudo, resultado de projeto de mestrado, que testou a aceitabilidade de misturas para a preparação de infusão compostas por *Cymbopogon citratus*, *Hibiscus sabdariffa* e *Moringa oleifera* junto de consumidores e

procurando também desenvolver vocabulário para a descrição sensorial das infusões (De-Heer, 2011). Uma vez que existe um número reduzido de estudos sensoriais tendo como objeto de estudo misturas de ervas aromáticas para a preparação de infusões, justifica-se a necessidade de explorar este campo através do presente projeto de mestrado.

4.1.8. Análise química

Dado que a composição em óleos essenciais das ervas aromáticas reflete-se sobre o aroma e sabor das infusões, influenciando as preferências do consumidor torna-se importante o estudo da composição química das infusões desenvolvidas.

Durante a realização do presente projeto não foram encontrados estudos relativos à composição em compostos voláteis em misturas de ervas aromáticas em infusão. Por essa razão, foi conduzida uma pesquisa bibliográfica sobre a composição dos óleos de cada um dos ingredientes que compõem as misturas estudadas. Tendo como base essa informação, foram construídas as tabelas 4.2. e 4.3.. A maioria dos artigos encontrados referiam-se a compostos identificados nas ervas aromáticas e especiarias e não no seu estado em infusão. Existe a possibilidade de degradação dos compostos voláteis na preparação das infusões.

Tabela 4.2.- Pesquisa referente aos principais compostos voláteis das ervas aromáticas e especiarias presentes nas misturas dedicadas à época natalícia

Ervas aromáticas	Principais compostos voláteis	Referência bibliografia
Agastache, <i>Agastache foeniculum</i>	estragol (metil chavicol), α - E-anetol, espatulenol, acetato bornilo, pulegona	(Zielińska & Matkowski, 2014)
	metil chavicol, espatulenol, aceto bornilo, γ - cadineno, β - cariofileno, α -limoneno, α -cadinol	(Charles, Simon, & Widrlechner, 1991)
Canela, <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	cinamaldeído, eugenol, cariofileno, α - pineno	(Gende, Floris, Fritz, & Eguaras, 2008)

	cinamaldeído, β -cariofileno, acetato cinamilo, 1,8 cineol (eucaliptol), eugenol	(Ranasinghe, Jayawardena, & Abeywickrama, 2002)
Cravinho, <i>Syzygium aromaticum</i>	eugenol, acetate de eugenilo, β -cariofileno.	(Ranasinghe, Jayawardena, & Abeywickrama, 2002)
	eugenol, acetate de eugenilo, β -cariofileno, 2-heptanona, α . humuleno, calacoreno, calamenene	(Chaieb et al., 2007)
Hiperiçãodo-gerês, <i>Hypericum androsaemum</i>	cariofileno oxide, β -cariofileno, germacrena- D, n-nonano, β -pineno, limoneno	<i>Guedes AP, Amorim LR, Vicente A, Fernandes-Ferreira M. (2004) Variation of essential oil content and composition in leaves from cultivated plants of Hypericum androsaemum L, Phytochemical Analysis 15, citado por (Bertoli, Çirak, & Silva, 2010)</i>
	β -cariofileno, limoneno, γ -elemene, germacrena- D, β -pineno, n-hexenal, n-nonano γ -muuroleno	<i>Guedes AP, Amorim LR, Vicente AMS, Ramos G, Fernandes-Ferreira M, (2003) Essential oil from plants and in vitro shoots of Hypericum androsaemum L. Journal of Agricultural Food Chemistry 51, (Bertoli et al., 2010)</i>
	dodecanoato de metilo 1531, germacrena-D, β -cariofileno, undecano, limoneno, β -pineno	<i>M.T.D. Nogueira, O Género Hypericum L. em Portugal citado por (Figueiredo, Barroso, & Pedro, 2007)</i>
Manjeriçãocanela, <i>Ocinum basilicum</i> “cinnamon”	3,7-dimetil-1,6octadien-3-ol (linalol),1-metoxi-4-(2-propenil) benzeno (estragole), methilo de cinamato, 4-allyl-2-	(Lee, Umano, Shibamoto, & Lee, 2005)

	methoxyphenol (eugenol), 1,8-cineol (eucaliptol)	
	metil chavicol , eugenol, linalol, 1,8-cineol (eucaliptol)	(Baritoux, Richard, Touche, & Derbesy, 1992)
	linalool, (E)-metilo de cinamato, metil chavicol, 1,8-cineol (eucaliptol)	(Wesolowska, Kosecka, & Jadcak, 2012)
Sementes de cardamomo, <i>Elettaria cardamomum</i>	acetato de α -terpinilo, 1,8-cineol (eucaliptol), α -terpineol, linalol	(Singh, Kiran, Marimuthu, Isidorov, & Vinogorova, 2007)
	acetato de α -terpinilo , 1,8-cineol (eucaliptol), linalol,	(Savan & Kuçukbay, 2013)
Tomilho-limão, <i>Thymus citrodorus</i>	Geraniol, geranial (trans-citral), neral (cis-citral), geranil acetato, carvacrol	(Horváth, Szabó, Héthelyi, & Lemberkovics, 2006)
	Geraniol, geranial e neral, nerol, geranil acetato, geranil butirato, timol	<i>E. Stahl-Biskup, J. Holthuijzen</i> Flavour Fragrance Journal 1995;10: 225-229 citado por (Omidbaigi, Sefidkon, & Hejazi, 2005)
	geraniol, geranial, neral, nerol, 3-octanona, borneol, methyl thymyl ether	(Omidbaigi, Sefidkon, & Hejazi, 2005)

Tabela 4.3.- Pesquisa referente aos principais compostos voláteis das ervas aromáticas presentes nas misturas dedicadas ao tema de frescura

Ervas aromáticas	Principais compostos voláteis	Referência Bibliografia
Alfazema, <i>Lavandula angustifolia</i>	linalol, acetato de linalilo, 1,8-cineol (eucaliptol), cânfora	(Porto, Decorti, & Kikic, 2009)
	Linalol, acetato de linalilo, β -carifileno	(Cunha, Silva & Roque, 2006)

	linalol, antranilato de linalilo, α -terpineol	(Tomescu et al., 2015)
Hortelã-vulgar, <i>Mentha spicata</i>	carvona, limoneno	(Cunha, Silva & Roque., 2006)
	carvone, limonene, 1,8-cineol (eucaliptol), β -pineno, cis-dihidrocarvona, dihidrocarveol	(Snoussi et al., 2015)
	carvona, limoneno, 1,8-cineol (eucaliptol)	(Chauhan et al., 2009)
	óxido de piperitenona	(Sartoratto et al., 2004)
Lima-kaffir, <i>Citrus hystrix</i>	Citronelal, β -pineno, sabinense, linalol, isopulegol, acetato de citronela	(Lawrence, Hogg, & Terhune, 1971)
	β -pineno, limoneno, terpinen-4-ol, α -terpineol, 1,8-cineol (eucaliptol), citronelol	(Waikedre et al., 2010)
	citronelal, linalol, hexanal, sabinene, β -citronelol	(Jirapakkul, Tinchon, & Chaiseri, 2013)
Limonete, Aloysia <i>triphylla</i>	citral (neral e geranial), limoneno, cineol (eucalyptol), geraniol, β -carifileno, espatulenol	(Carnat, Carnat, Fraisse, & Lamaison, 1999)
	geranial, neral, limoneno	(Sartoratto et al., 2004)
Manjeriço-limão, <i>Ocimum x</i> <i>citrodorum</i>	geranial, neral, nerol, linalol, (E)-alfa-bisaboleno, geraniol, β -carifileno	(Tisserand & Young, 2014)
Perpétua-rosa, <i>Gomphrena</i> <i>globosa</i>	b-ocimeno, benzaldeído, tiglato de benzilo, isovalerato de geranilo propionato de geranilo 4,8,12-tetradecatrienal - 5,9,13-trimethyl, benzaldeído, geranilo de acetona, nonanal, decanal	(Jiang, Zhao, Wang, & Chen, 2011)

Diversas metodologias têm vindo a ser usadas na análise da composição em compostos voláteis em ervas aromáticas, sendo a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência (*High performance liquid chromatography*, HPLC) as metodologias mais utilizadas (Carnat, Carnat & Fraisse., 1999; Jiang, Zhao, Wang, & Chen, 2011; Tomescu et al., 2015; Waikedre et al., 2010).

Uma vez que se pretendia uma análise simples do tipo de óleos essenciais presentes nas *blends* desenvolvidas, e pelo facto de não existir tempo suficiente para uma análise exaustiva, sendo um complemento ao trabalho sensorial aplicado, optou-se por aplicar a metodologia de extracção de compostos voláteis por *Head Space Solid Phase Extraction* (HS-SPME) seguida de análise dos mesmos por cromatografia em fase gasosa com detecção por massa (gas chromatography with mass detection: GC-MS). A HS-SPME é uma técnica usada frequentemente na análise do *flavor*, sendo de simples utilização, de baixo custo e de fácil reprodução (Câmara, Alves, & Marques, 2006; Ma, Hamida, Bekhit, Robertson, & Law, 2013) É um teste sensível, que permite a análise de compostos voláteis e semi-voláteis com diferentes pontos de ebulição, sem ser necessária a adição de solventes (Ma, Hamida, Bekhit, Robertson, & Law, 2013; Xiao et al., 2015). Esta técnica tem vindo a ser utilizada no estudo de compostos voláteis em diversos vinhos e em vários tipos de carnes (Ma, Hamida, Bekhit, Robertson, & Law, 2013).

De forma simplificada, esta técnica consiste na utilização de uma “seringa modificada”, constituída por uma fibra de sílica recoberta por um polímetro incorporada no interior da agulha protetora, para a extração dos compostos voláteis (Vas & Vékey, 2004). Na figura 4.7. é possível observar uma representação dessa estrutura (Vas & Vékey, 2004). Quando retraída a agulha, a fibra fica exposta ao ambiente permitindo ao polímetro comportar-se como uma “esponja”, concentrando os compostos (Vas & Vékey, 2004). Neste caso, a absorção foi realizada no *headspace*, na qual a fibra ficou exposta ao vapor em vez de diretamente inserida na amostra líquida (Vas & Vékey, 2004). Após terminada a recolha, a fibra é retraída para dentro da agulha protetora, passando para a fase de transferência dos compostos absorvidos pela fibra para o cromatógrafo (Vas & Vékey, 2004). A dessorção dos compostos ocorre no injetor aquecido do cromatógrafo gasoso, no qual a fibra é inserida (Vas & Vékey, 2004). Os compostos orgânicos são, em seguida, transferidos termicamente para a coluna cromatográfica para separação dos compostos voláteis (Valduga et al., 2010). De seguida, o detetor de massa

analisa os compostos (Ma, Hamida, Bekhit, Robertson, & Law, 2013). A identificação dos compostos poderá ser feita através da comparação do espectro de massa do composto obtido com o espectro de massa de uma base de dados como National Institute of Standards and Technology (NIST) Database ou por comparação com espectro de massa de padrões.

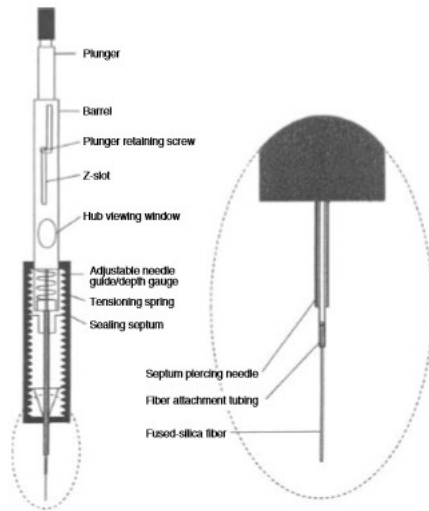


Figura 4.7. Diagrama da “seringa modificada”, Método SPME

5. Materiais e Métodos

5.1. Etapas do projeto

Na tabela 5.1. encontram-se descritas as principais etapas que compuseram o presente projeto de mestrado.

Tabela 5.1. - Principais fases do projeto

Fases do projeto:	
1ª Fase – Desenvolvimento/criação do produto propriamente dita	<ul style="list-style-type: none"> - Identificação de oportunidades de mercado; - Familiarização com as ervas aromáticas; - Formulação das misturas de ervas aromáticas para infusão tendo em conta as “temáticas” a desenvolver; - Seleção das fórmulas a estudar nos testes de preferência e aceitabilidade junto dos consumidores; - Estabelecimento dos parâmetros ótimos de preparação das infusões (tempo e temperatura de extração);
2ª Fase - Condução de testes sensoriais	<ul style="list-style-type: none"> - Realização de testes de preferência e aceitabilidade junto de consumidores, de forma a determinar quais as fórmulas com maior potencialidade;
3ª Fase - Análise química das misturas	<ul style="list-style-type: none"> - Identificação de compostos voláteis presentes nas misturas através HS-SPME/GC-MS.

No desenvolvimento destes produtos, para além de ter sido necessário considerar a “temática” da tisana, foi também necessário considerar o segmento-alvo de consumidores aos quais são dirigidos: habituais consumidores de infusões de ervas aromáticas, consumidores de produtos biológicos e/ou indivíduos que têm preferência por produtos *gourmet*.

5.1.1. 1ª Fase – Desenvolvimento/criação do produto propriamente dito

5.1.1.1. Identificação de oportunidades de mercado:

Na fase inicial do projeto, foram conduzidas pesquisas de mercado, via online e *in loco*, em superfícies comerciais, sobre os tipos de produtos e misturas já existentes no mercado desenvolvidas por competidores. Esta estratégia tinha como objetivo identificar oportunidades de mercado e gerar conceitos de produtos que possam competir com sucesso no mercado-alvo.

Esta fase teve também como fator os “temas” propostos para o desenvolvimento das misturas (uma tisana dedicada à época natalícia e uma que conferisse a sensação de frescura), permitindo identificar quais os ingredientes que lhes são comumente associados pelos competidores. De forma informal, foi também questionado um número reduzido de consumidores, relativamente aos sabores e ingredientes que associam aos “temas”, particularmente à época natalícia.

5.1.1.2. Formulação:

Inicialmente foi necessário realizar uma familiarização com as ervas aromáticas. Foram provadas infusões de diversas ervas aromáticas de forma isolada. Isto permitiu conhecê-las sensorialmente e potenciar a geração de ideias para a formulação das novas misturas.

Posteriormente, iniciou-se a fase de experimentação, testando diferentes combinações de plantas. Nesta fase também foram tidas em consideração as granulometrias das ervas aromáticas e especiarias, como por exemplo do Cravinho, Lima-kaffir e Limonete. Se estas fossem demasiado grandes, dificultariam a realização das misturas, podendo até mesmo depositar-se no fundo da embalagem. Depois do estudo de preferência e aceitabilidade realizado neste trabalho, este ponto poderá voltar a ser estudado, como forma a melhorar as fórmulas selecionadas e as dimensões das suas partículas.

Estudos realizados anteriormente no Cantinho das Aromáticas, consideraram que 3 gramas de mistura é uma medida aproximada do consumo usual do consumidor para a preparação de 1 litro de infusão. Esses parâmetros foram aplicados, de uma forma geral, em toda a gama de produtos para a preparação de infusões sendo também utilizados no desenvolvimento dos produtos do presente projeto. Desse modo, foram testadas diferentes combinações e proporções de diversos ingredientes de forma a perfazerem 3 gramas por 1 litro de água. Para a pesagem dos ingredientes foi utilizada uma balança de precisão.

Esta fase foi auxiliada pela equipa do Cantinho das Aromáticas, visto estarem habituados ao processo de desenvolvimento de novas *blends* para infusão. Nesta etapa foram delimitadas e selecionadas as misturas de ervas aromáticas para infusão com maior potencialidade e que

melhor correspondiam ao “tema” a que se propunham (dedicadas à época natalícia e infusões que transmitissem a sensação de frescura), para a sua posterior análise sensorial em grupo (na qual, foram selecionadas as misturas que foram testadas posteriormente nos testes de preferência e aceitabilidade).

No que se refere às “temáticas” das tisanas, no projeto foi considerado que as fórmulas resultantes desta fase continham o sabor e *flavor* expectável e que transmitam as sensações a que se propunham. No entanto, seria necessário realizar um estudo mais extenso, com um grupo de provadores, para determinar que as fórmulas cumpriam esse ponto. Possivelmente, o estudo poderia ser complementado por um Check-All-That-Apply (CATA), uma vez que permitiria ao provador selecionar de numa lista de descritores (palavras ou frases) aqueles que consideram mais apropriados para descrever sensorialmente o produto (Valentin, Chollet, Lelièvre, & Abdi, 2012; Varela & Ares, 2012).

5.1.1.3. Provas sensoriais de grupo - seleção das fórmulas com maior potencialidade para os testes de preferência e aceitabilidade

Esta fase teve como objetivo delimitar o número de amostras a serem estudadas nos testes de preferência junto de consumidores. Esta fase foi realizada através da condução de provas sensoriais e, à semelhança de outras etapas teve como provadores elementos da equipa do Cantinho. Apesar do número de provadores ser reduzido (entre 5 a 6 pessoas, geralmente), é composto por habituais consumidores de tisanas e pessoas experientes neste processo.

As misturas eram preparadas utilizando uma balança de precisão, seguindo as fórmulas estabelecidas na fase de formulação, sendo posteriormente colocadas em filtros de papel (filtros de papel para chá Teeli Flip S®), devidamente identificados. Como referido anteriormente, foi utilizada a concentração de 3 gramas de mistura para a preparação de 1 litro de infusão. Para a preparação das infusões foi utilizada água filtrada, através de um filtro de carbono ativo (Carbonit® SANUNO). É importante ainda referir que todas as amostras preparadas nesta primeira prova tiveram os mesmos parâmetros de extração (tempo em infusão e temperatura da água). Numa fase posterior foram realizados novos testes de grupo de forma a estabelecer os parâmetros ótimos para as fórmulas selecionadas. Estas provas foram cegas, sendo apenas do conhecimento do provador o objetivo da tisana (“temática” em que se enquadrava).

Nestas provas foi solicitado a cada participante que classificasse numa escala de 5 pontos a sua apreciação global das amostras em estudo. Sendo que 1 correspondia à menos preferida e 5 à mais preferida, como exemplificado na folha de prova em **Apêndice A**. Foi também

encorajado a que os participantes comentassem as suas classificações, oralmente, de forma a determinar oportunidades de melhoria das fórmulas. A composição de cada mistura foi apenas dada a conhecer no fim de cada prova, após a apreciação e avaliação de todos os provadores, para a obtenção de sugestões adicionais.

Com base nas observações destas primeiras provas retomava-se a etapa de formulação, adicionando novos ingredientes ou variando as concentrações/proporções das ervas que compoñham as fórmulas de modo a otimizar a fórmula original.

Depois de serem estabelecidas as novas fórmulas, foram retomadas as provas sensoriais em grupo de forma a determinar as fórmulas finais a serem estudadas nos testes de preferência e aceitabilidade junto do consumidor. Estas provas geralmente incluíram as fórmulas originais e as versões reformuladas/novas. Novamente, a composição de cada amostra era desconhecida aos provadores, sendo apenas conhecido o objetivo da prova e que tipo de mistura se pretendia obter (dedicada a época natalícia ou que transmitisse a sensação de frescura). À semelhança da prova anterior, as amostras foram preparadas com os mesmos parâmetros de extração (tempo e temperatura).

No final desta etapa obtiveram-se duas misturas finais para cada uma das “temáticas” (Natal e Frescura).

5.1.1.4. Provas sensoriais de grupo - estabelecimento dos parâmetros ótimos de preparação das infusões (tempo e temperatura de extração)

Esta prova teve como objetivo estabelecer a temperatura e tempo de extração otimizados para cada amostra, de modo a que fosse possível obter a melhor experiência sensorial. Esses parâmetros foram posteriormente utilizados nos testes de preferência. Para cada fórmula selecionada foram testados diferentes parâmetros de extração de tempo e temperatura, como representado na tabela 5.2. recorrendo à utilização de termómetros e cronómetros. A ordem de prova foi randomizada.

Tabela 5.2. - Combinações de temperatura e tempo testadas

Temperatura da água e Tempo de extração
85°C; 5 min
85°C; 7 min
90°C; 5 min
90°C; 5 min
95°C 5 min
95°C 7 min

5.1.1.5. Composição das fórmulas finais e parâmetros de preparação

A composição das misturas de ervas aromáticas para infusão obtidas no final da primeira fase encontram-se representadas nas tabelas 5.3. e 5.4., assim como os parâmetros de extração estabelecidos.

Tabela 5.3. – Composição das misturas dedicadas à época natalícia

Composição das fórmulas*	Parâmetros de preparação/extração das infusões
Hipericão-do-gerês, <i>Hypericum androsaemum</i> Manjericão canela, <i>Ocimum basilicum</i> “cinnamon” Tomilho-limão, <i>Thymus x citrodorus</i> Agastache, <i>Agastache foeniculum</i> Cravinho, <i>Syzygium aromaticum</i> Sementes de cardamomo, <i>Elettaria cardamomum</i>	3 gramas de mistura 1 litro de água 90 °C 7 minutos
Hipericão-do-gerês, <i>Hypericum androsaemum</i> Tomilho-limão, <i>Thymus x citrodorus</i> Canela, <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Cravinho, <i>Syzygium aromaticum</i>	3 gramas de mistura 1 litro de água 95°C 5 minutos

*ordem decrescente de concentração

Tabela 5.4. - Composição das misturas dedicadas à sensação de frescura

Composição das fórmulas*	Parâmetros de preparação/extração das infusões
Lima-kaffir, <i>Citrus hystrix</i>	3 gramas de mistura
Hortelã-vulgar, <i>Mentha spicata</i>	1 litro de água
Manjeriçã-limão, <i>Ocimum x citrodorum</i>	95°C
Perpétua-rosa, <i>Gomphrena globosa</i>	7 minutos
Alfazema, <i>Lavandula angustifolia</i>	
Hortelã-vulgar, <i>Mentha spicata</i>	3 gramas de mistura
Lima-kaffir, <i>Citrus hystrix</i>	1 litro de água
Limonete, <i>Aloysia triphylla</i>	90°C
Perpétua-rosa, <i>Gomphrena globosa</i>	7 minutos

*ordem decrescente de concentração

5.1.2. 2ª Fase - Análise Sensorial, testes de preferência e aceitabilidade:

Os testes sensoriais do projeto pretendiam avaliar a aceitabilidade de cada amostra e determinar quais as amostras preferidas, tendo em conta o grupo em que se enquadravam (misturas dedicadas à época natalícia e as misturas que pretendiam transmitir sensação de frescura). O tipo de teste de preferência aplicado no projeto foi o de preferência emparelhado, no qual são apresentadas duas amostras, simultaneamente, ao provador para serem avaliadas (Meilgaard, Civille & Carr, 2007; Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). A resposta era forçada, obrigando o provador a escolher uma das amostras em detrimento da outra. Todavia isto não indicava qual a razão da sua escolha (Meilgaard, Civille & Carr, 2007), sendo necessários estudos complementares para determinar o motivo da escolha. Não foi incluída a opção de resposta “nenhuma das amostras”, uma vez que o número de participantes seria cerca de 60 pessoas, e ao colocar essa opção obteriam um número de respostas inferior (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006) e isso levaria à perda de dados.

5.1.2.1. Delineamento do questionário aplicado:

No apêndice B é possível encontrar o questionário desenvolvido para o presente trabalho de mestrado. O questionário encontra-se dividido em 3 grupos, tendo sido aplicado para cada uma das “temáticas” (natal e frescura):

- O 1º grupo, com questões relativas à caracterização demográfica do grupo e frequência de consumo de tisanas;
- O 2º grupo referia-se à aceitabilidade de cada uma das amostras, sendo questionado ao provador a sua avaliação global de cada amostra, assim como a sua apreciação quanto a cor, aroma e sabor das infusões;
- O 3º grupo continha questões referentes à preferência e aceitabilidade do provador quanto às amostras apresentadas - era solicitado ao provador que indicasse qual a sua amostra preferida dentro do grupo apresentado (refere-se à preferência), sendo mais tarde questionado em relação à probabilidade de aquisição do produto (aceitabilidade). Era ainda colocada uma questão adicional relativa ao momento em que o provador consumiria a amostra preferida (esta pergunta pretendia determinar se amostra preferida se enquadrava com a “temática” para a qual tinha sido desenvolvida). Na pergunta relativa à probabilidade de aquisição do produto, não é possível determinar a real intensão de aquisição do produto, uma vez que não estão a ser tidos em conta fatores como o preço do produto e a disponibilidade no local habitual de compras.

No desenvolvimento do questionário aplicado foram utilizadas essencialmente dois tipos de escalas: escalas hedónicas (de 7 e 9 pontos) e a escala de *Juster*.

A escala hedónica de 9 pontos encontra-se validada na literatura científica no que se refere à capacidade de prever a aceitabilidade de um produto, tendo vindo a ser utilizada há mais de 50 anos (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). É uma escala de fácil uso, intuitiva pretendendo apenas medir o gosto/*liking* do provador pelo produto (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). Esta escala é considerada de confiança, dando respostas semelhantes quando o seu uso é recorrente (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). No entanto, o seu uso não é consensual em toda a comunidade científica. Alguns investigadores defendem que a escala deveria ser não balanceada, uma vez que a indústria apenas pretende avaliar produtos com qualidade, sendo considerado tempo perdido de escala, estar a avaliar algo que não passaria para a fase de teste (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). Outros investigadores

defendem que seria melhor utilizar uma escala maior para melhor discriminação (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). Ainda outros defendem que os provadores não utilizam todos os pontos da escala, preferindo escalas mais pequenas (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). Apesar dos contras encontrados na bibliografia, a escala hedónica de 9 pontos foi utilizada no presente estudo devido à sua validação científica e à facilidade da sua aplicação e compreensão.

No questionário também foi utilizada a escala hedónica de 7 pontos para avaliar as características da infusão como a cor, aroma e sabor. Optou-se por uma escala menor que a anterior, de forma a evitar que o questionário se tornasse demasiado extenso para os provadores. Uma vez que alguns investigadores defendem que os respondentes não utilizam toda a escala e que estes tendem a evitar utilizar os extremos das escalas (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006), considerou-se mais pertinente a utilização uma escala de 7 pontos e não de 5 pontos.

A escala de *Juster* mede a probabilidade de compra de diversos produtos ou serviços (Brennan & Esslemont, 1994). Diversos estudos sugerem que a escala de *Juster* tem uma melhor capacidade em prever a aquisição do que as escalas de intensão de compra, no entanto não é muito precisa (Brennan & Esslemont, 1994). Tipicamente, esta escala procura prever comportamentos sem ter em consideração outros produtos ou serviços já existentes no mercado (McDonald & Alpert, 2001). Na aplicação do questionário também não foram considerados outros fatores para além da preferência e o *liking* do consumidor, impedindo que os resultados transmitissem a intenção de compra real.

O mesmo questionário foi introduzido para das duas “temáticas” (natalícia e a de frescura) na plataforma online Qualtrics®. Após terminar o primeiro questionário, o provador era diretamente reencaminhado para o segundo questionário. Era randomizada a ordem de começo dos questionários, ou seja, alguns provadores iniciavam a prova com as tisanas de natal e outros provadores iniciam a prova com as *blends* dedicadas à frescura. Nesta plataforma foi ainda possível aplicar um sistema de randomização da ordem em que as amostras eram apresentadas dentro de cada par de amostras.

5.1.2.2. Pré-teste:

De modo a determinar se o teste desenvolvido tinha sido corretamente concebido, o questionário foi aplicado a um número reduzido de provadores. Aqui foi possível determinar pontos de melhoria do teste, permitindo ajustar a estratégia de metodologia nos dias dos testes. Uma das principais observações foi a necessidade de se estabelecer um período de frequência de preparação de infusões, dado que as infusões alteravam-se sensorialmente devido ao período prolongado que permaneciam armazenadas em garrafas térmicas. Outra observação era da

necessidade de oralmente e por escrito dar a indicação de que a prova era constituída por dois questionários e que, após terminar o primeiro o provador era diretamente reencaminhado para o segundo, tendo avaliado total de 4 amostras em toda a prova.

5.1.2.3. Metodologia dos dias de prova

As provas foram realizadas no *Kitchen Lab* da Escola Superior de Biotecnologia. Este espaço era de fácil acesso aos provadores, favorecendo também o seu recrutamento. O espaço transmitia um ambiente calmo e controlado para a realização das provas sensoriais.

Para a realização dos testes foram disponibilizados 6 computadores portáteis, com acesso à internet, para que fosse possível aplicar os questionários desenvolvidos.

Antes do dia de prova foi necessário preparar alguns materiais, tais como as misturas de ervas aromáticas em estudo. Cada ingrediente que compunha as fórmulas foi pesado com balança de precisão, perfazendo a concentração de 3 gramas de mistura por 1 litro de infusão. Posteriormente, essas 3 gramas de mistura eram colocadas em filtros de papel (Filtros de papel para chá Teeli Flip S ®), devidamente identificados. Este processo foi repetido de forma a obter amostras suficientes, tendo em conta o número de provadores necessários. Este processo procurava uma maior homogeneidade entre as amostras com a mesma fórmula.

Nos dias das provas, as amostras foram preparadas com a frequência média de 15 em 15 minutos, seguindo os parâmetros de preparação otimizados (tempo e temperatura de extração). Pretendia-se com esta frequência de preparação evitar o máximo de alterações nas infusões, nomeadamente quanto à cor, aroma e sabor. De seguida, as infusões eram armazenadas em garrafas térmicas de modo a conservar a sua temperatura. Cada amostra era posteriormente identificada com um código que anteriormente lhe tinha sido atribuído. Esse código era constituído por três algarismos, escolhidos de forma randomizada (Moskowitz, Beckley & Resurreccion, 2006). Posteriormente, as amostras eram colocadas nos seus respetivos copos de prova, previamente codificados. Para a preparação das infusões foi utilizada água isenta de odores e sabores. Durante a prova encontrava-se disponível açúcar para o caso dos provadores consumirem habitualmente tisanas com açúcar. Assim, a prova aproximava-se o mais possível das condições do seu consumo real. Também encontrava-se disponível a cada participante água, para limpar o palato entre as amostras.

Oralmente era indicado a todos os participantes antes de iniciarem a prova que, esta era constituída por dois questionários, após terminar o primeiro eram diretamente reencaminhados

para o segundo questionário e que no total iriam avaliar 4 amostras. Estas indicações eram também colocadas em folhetos junto dos computadores utilizados na prova.

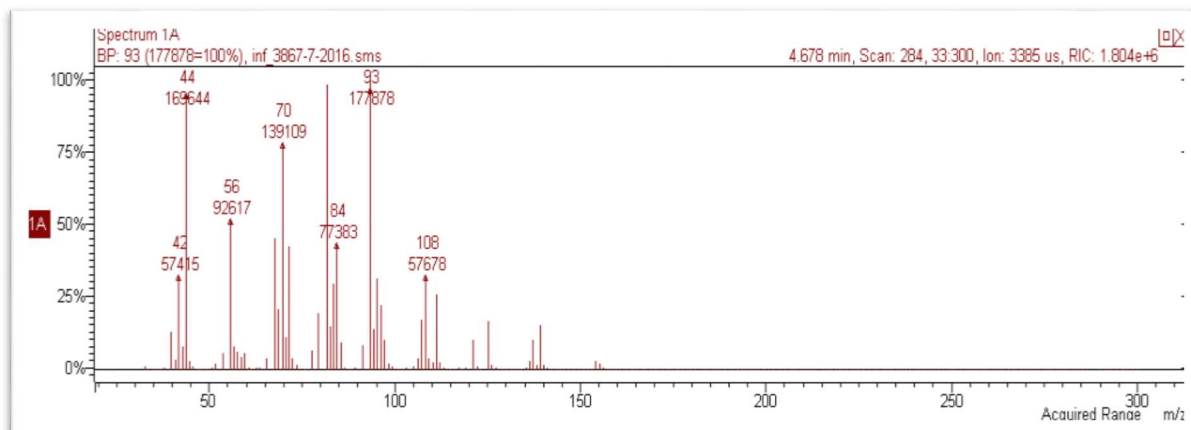
5.1.3. 3ª Fase – Análise química

5.1.3.1. Metodologia do teste

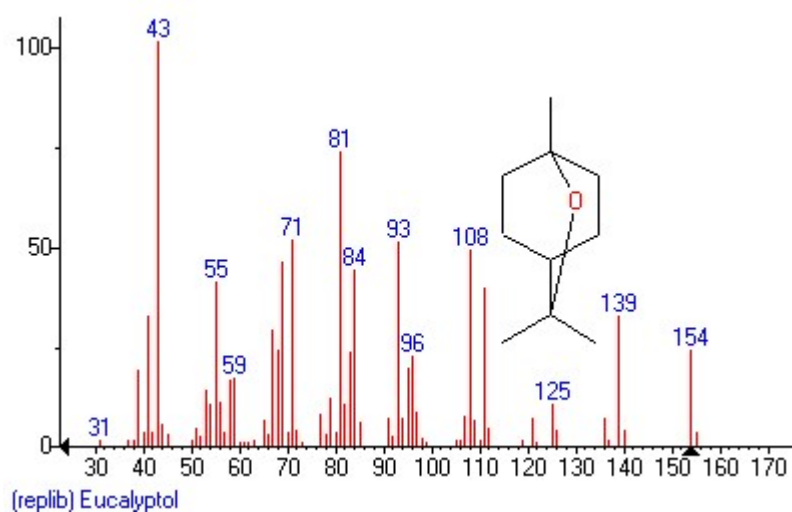
Foi utilizado neste projeto o cromatógrafo gasoso Varian CP-450 (Walnut Creek, CA, USA), equipado com um injetor automático (Combipal®) e com uma coluna FactorFour VF-WAXms de 15m de comprimento x 0,15mm diâmetro interno x 0,15µm de espessura de filme da marca Varian (Lake Forest, CA, USA). A temperatura do injetor foi de 220°C, e o caudal do gás transportador de 1 ml/min. Os compostos presentes nas amostras analisadas foram quantificados com extração de íão (m/z), em “*Full Scan mode*” com massa entre os 33 e 350 m/z, através de um detector de massa Varian Saturn 240 MS (Walnut Creek, CA, USA).

As misturas e as infusões preparadas para a recolha das amostras seguiram os mesmos parâmetros estabelecido na fase dos testes de preferência e aceitabilidade. Para cada uma das tisanas desenvolvidas foram preparados tubos de ensaio, com 0,5 gramas de sulfato de sódio, seguindo-se a adição de 5 ml de infusão. Em cada amostra foi ainda adicionado 20 µl de padrão interno (3-octanol – 49,4 mg/l). Em seguida, as amostras foram expostas a uma fibra de divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30 mm da marca Supelco (Bellefonte, PA, USA), sujeitas a uma pré-incubação a 40°C durante 5 minutos. A extração das amostras ocorreu a uma temperatura de 40°C durante 15 minutos.

A identificação dos picos foi feita maioritariamente através da comparação dos espectros de massa das amostras e os espectros National Institute of Standards and Technology (NIST) Database, disponível na ESB, como exemplificado na figura 5.1. Alguns compostos foram identificados através da comparação com os tempos de saída dos seus respetivos padrões e espectros de massa, como é possível observar na análise dos resultados.



Exemplo de espectro de massa da amostra



Exemplo de espectro da base de dados NIST

Figura 5.1. – Espectro de massa da amostra vs Espectro de massa da base de dados NIST

6. Resultados e Discussão

6.1. Testes de Preferência e Aceitabilidade, Análise Sensorial

Como já referido anteriormente, os dados sensoriais do presente projeto foram recolhidos através da aplicação de um questionário construído para o projeto, usando a plataforma *online* Qualtrics®. O questionário permitiu atingir o objetivo do trabalho, determinar quais as amostras preferidas pelos consumidores inquiridos, no entanto a análise dos dados foi limitada. A utilização desta plataforma permitiu apenas observar a frequência absoluta de cada resposta para cada questão, não permitindo observação dos dados de cada participante, impossibilitando a correlação entre questões.

O tratamento dos dados foi realizado através do Microsoft Office Excel 2013 e do programa IBM SPSS Statistics versão 23.

6.1.1. Caraterização dos provadores

Uma vez que os provadores que participaram nos testes de preferência e aceitação das *blends* natalícias foram os mesmos apreciadores das misturas dedicadas à frescura, a caraterização dos provadores é comum às duas “temáticas”.

As provas atingiram o número mínimo de participantes, segundo a bibliografia. Contaram com 64 participantes, dos quais 13 eram do sexo masculino e 51 do sexo feminino.

Os indivíduos questionados tinham idades compreendidas entre os 18 e os 58 anos, sendo a idade média de $32,67 \pm 11,04$. A figura 6.1. representa a distribuição dos provadores por classe etária. É possível observar que a maioria dos inquiridos tinha idade inferior a 38 anos.

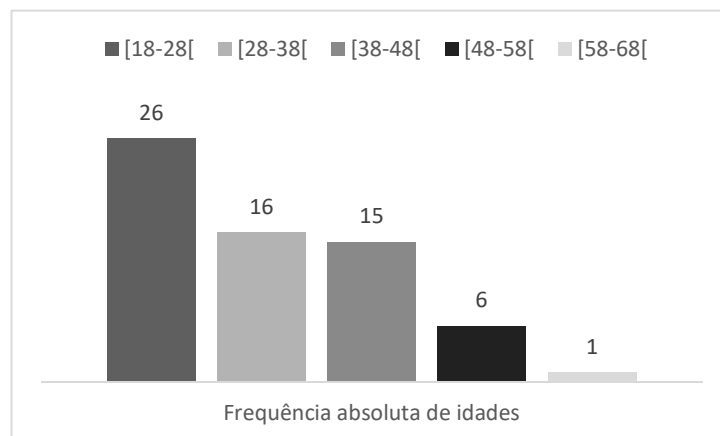


Figura 6.1. – Frequência absoluta de Provadores por classe etária

Relativamente aos pais de origem, a maioria dos indivíduos questionados tinha origem Portuguesa (89,1%), residindo também a maioria em Portugal (96,9%).

Quanto ao nível de escolaridade, maioria dos inquiridos tinham o grau de licenciatura ou mestrado (44 dos inquiridos), como representado na figura 6.2.

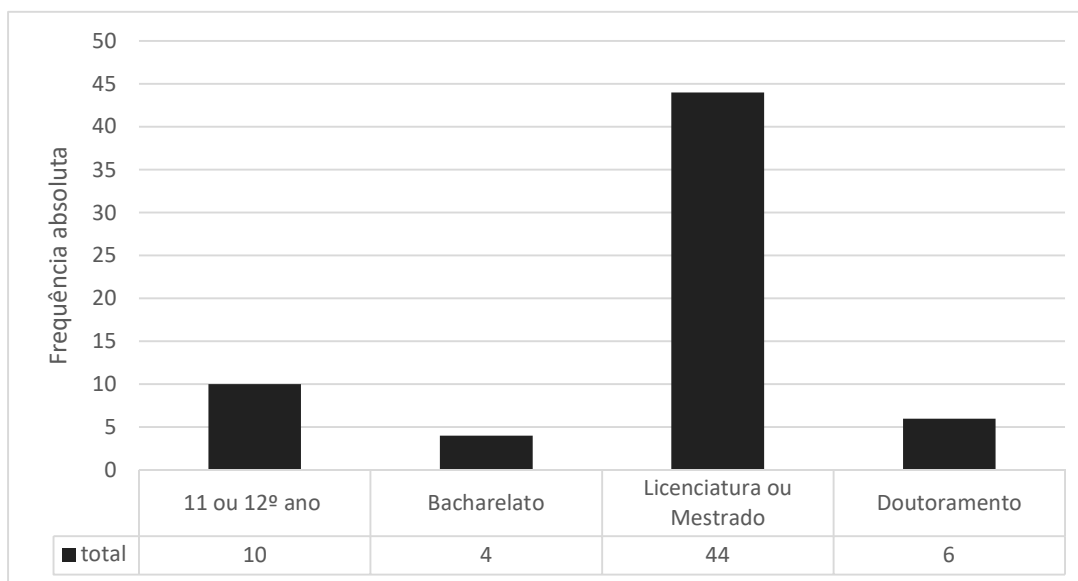


Figura 6.2. – Frequência absoluta de provadores, tendo em conta o nível de escolaridade

No que se refere à frequência de consumo de infusões, cerca de 80% dos inquiridos indica que consome diariamente ou uma ou mais vezes por semana infusões de ervas aromáticas. Tendo em conta a frequência de consumo, este grupo é adequado aos objetivos do estudo, dado que pretendia-se determinar a aceitabilidade a preferência em relação às tisanas desenvolvidas. Na figura 6.3. é possível observar a frequência de respostas obtidas no que se refere ao consumo de infusões.

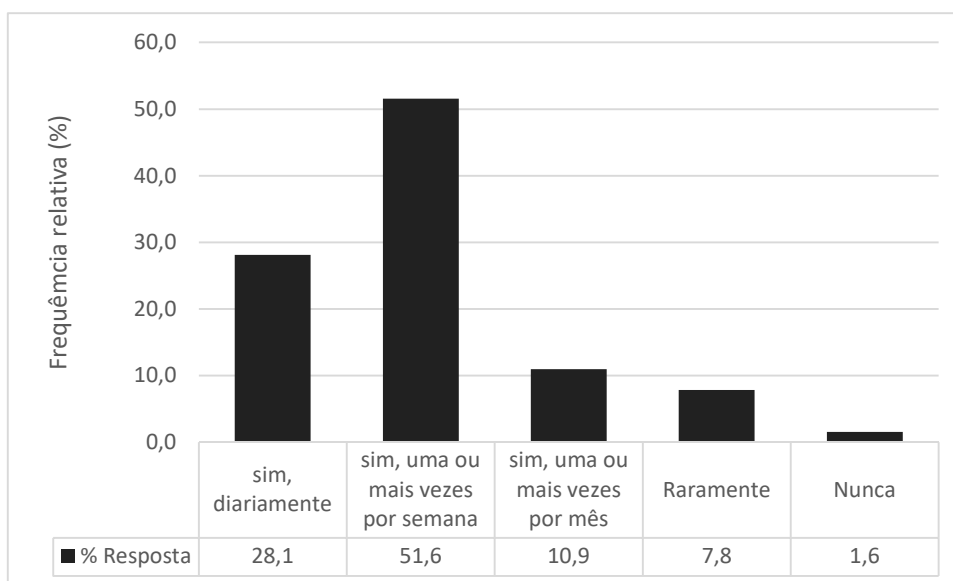


Figura 6.3. – Frequência relativa de provadores, tendo em conta a frequência de consumo de infusões

6.1.2. Apreciação das misturas

De forma a facilitar a análise dos dados, foram estabelecidos códigos para cada uma das misturas. Nas tabelas 6.1. e 6.2. encontram-se os códigos atribuídos.

Tabela 6.1. - Códigos atribuídos às misturas dedicadas à “temática” Natal

Composição das fórmulas	Código atribuído
Hiperício-do-gerês Tomilho-limão Canela Cravinho	TN1
Hiperício-do-gerês Manjerico canela Tomilho-limão Agastache Cravinho Sementes de cardamomo	TN2

Tabela 6.2. - Códigos atribuídos às misturas dedicadas à “temática” Frescura

Composição das fórmulas	Código atribuído
Lima-kaffir Hortelã-vulgar Manjerição-limão Perpétua-rosa Alfazema	TF1
Hortelã-vulgar Lima-kaffir Limonete Perpétua-rosa	TF2

6.1.2.1. Misturas dedicadas à “temática” Natal

a. Apreciação global das amostras TN1 e TN2

De uma forma geral, os resultados sugerem que as duas amostras dedicadas à época natalícia tiveram uma apreciação positiva. Nesta avaliação era pedido que o provador avaliasse globalmente as amostras, tendo em conta o aroma, cor e sabor das infusões. 45,4% das pessoas assinalou a sua resposta entre as afirmações “Gostei extremamente”, “Gostei muito” e “Gostei moderadamente”, na escala de apreciação global relativamente à amostra TN2. Ao avaliar a amostra TN1, 56,3% dos indivíduos utilizou o mesmo intervalo de resposta. Isto indica que, potencialmente, as infusões poderiam ser bem aceites pelo consumidor. Na figura 6.4. está representada a apreciação global das amostras TN1 e TN2.

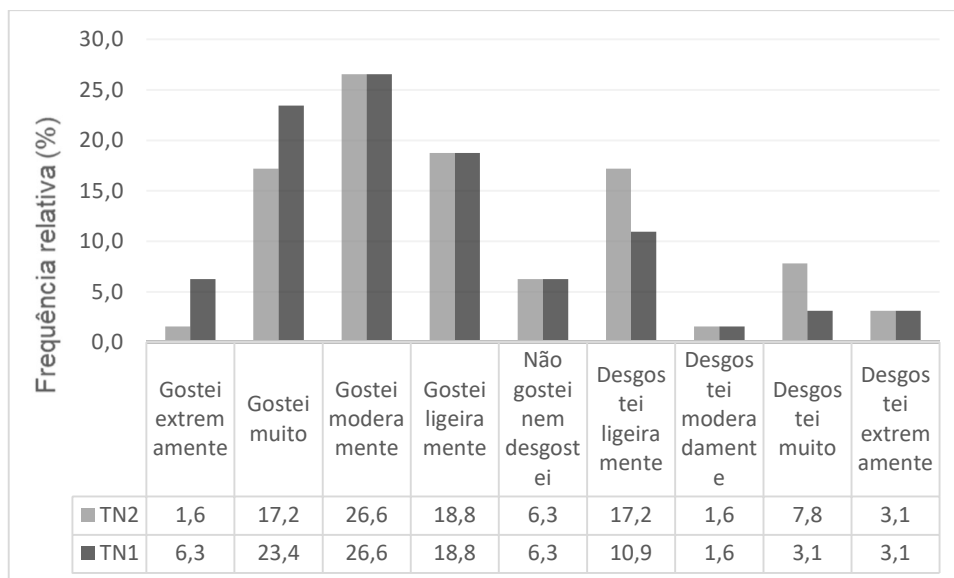


Figura 6.4. Apreciação global das amostras TN1 e TN2

b. Avaliação do aroma, cor, sabor das amostras TN1 e TN2

As figuras 6.5. e 6.6. demonstram a apreciação dos provadores face à cor, aroma e sabor das amostras TN1 e TN2. Ao observar a figura 6.5. é possível notar que, relativamente à cor e aroma, a amostra TN2 potencialmente tem boa aceitabilidade junto do consumidor. A maioria de percentagem de resposta encontravam-se entre as afirmações “Nem boa nem má” e “Muito boa” da escala utilizada. No entanto, no que se refere ao sabor, as respostas encontram-se muito dispersas, sem ser possível observar a tendência do grupo face ao sabor. Isto poderá indicar que a formulação desta infusão deveria ser melhorada. Relativamente aos resultados da avaliação da cor, aroma e sabor da amostra TN1, estes sugerem que a infusão terá uma boa aceitabilidade. Todos estes parâmetros tiveram maior frequência de resposta entre as afirmações “Nem boa nem má” e “Muito boa”.

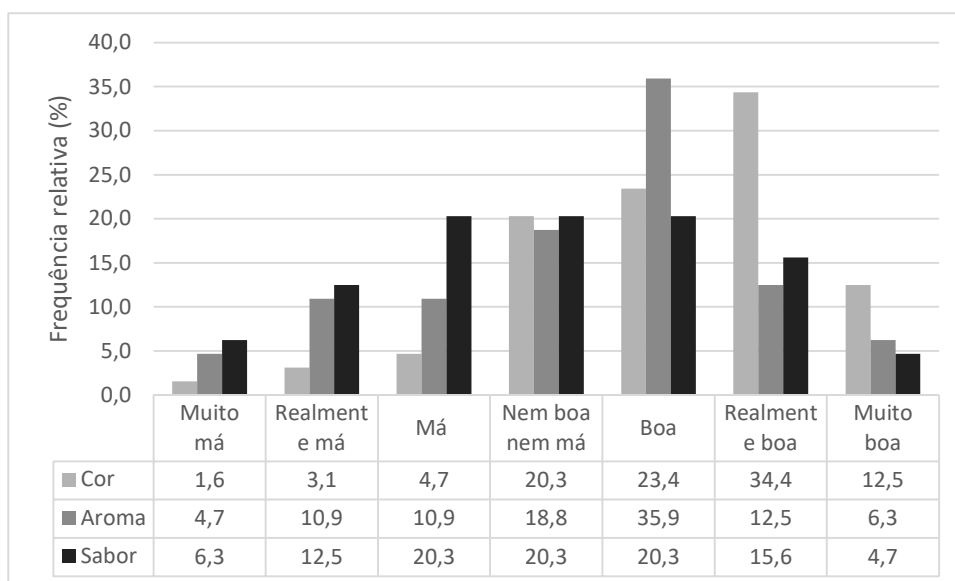


Figura 6.5. - Cor, Aroma e Sabor da amostra TN2

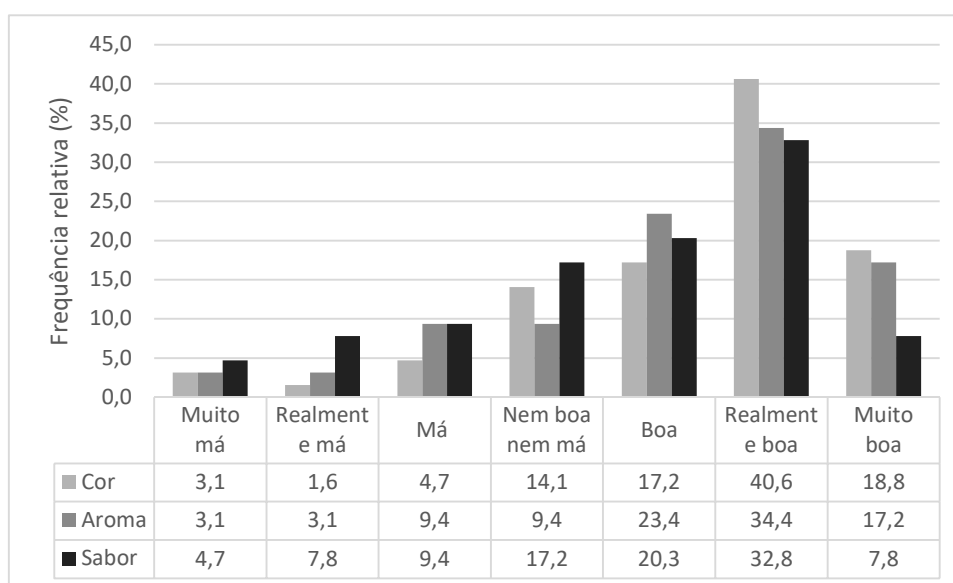


Figura 6.6. - Cor, Aroma e Sabor da amostra TN1

c. Aspectos que mais gostaram e que menos gostaram

Na fase final da apreciação individual de cada amostra era questionado ao provador “o que gostou mais da amostra” e “o que gostou menos da amostra”. A questão era colocada de forma aberta, sem ser colocada a obrigatoriedade de resposta (contrariamente às restantes questões). Analisando os comentários obtidos nas questões, estes foram contabilizados e categorizados, tendo em conta o parâmetro a que se referiram (cor, aroma ou sabor). Por exemplo, comentários referentes a “um sabor exótico” ou “sabor floral” foram categorizados como comentários

referentes ao sabor. Muitos dos inquiridos apenas indicavam os parâmetros que mais ou menos gostavam, fazendo sentido analisar os resultados através da frequência de comentários relativos à categoria. O resultado deste processo foi representado nas figuras 6.7 e 6.8. É fundamental considerar que os provadores podiam fazer comentários relativos a mais que uma categoria (cor, aroma e sabor) para cada uma das duas questões.

Na amostra TN2, o sabor foi o parâmetro que conteve maior número de comentários referentes à questão "o que gostou menos da amostra" (com 28 dos comentários). Apenas 16 comentários relativos a amostra TN2, apontavam que o sabor era o parâmetro que gostavam mais. Isto sugere que possivelmente a fórmula poderia ser otimizada ou que os seus parâmetros de preparação deveriam ser melhorados, de forma a obter uma melhor aceitação junto dos inquiridos. A cor foi apontada como o parâmetro preferido da amostra TN2 (23 dos comentários relativos ao que "gostou mais").

Relativamente à amostra TN1, o sabor foi também o parâmetro que os consumidores menos apreciaram (26 comentários). Porém, este valor é aproximado do número de afirmações que indicam que gostam do sabor (20 comentários). Este dado sugere que a formulação ou os parâmetros de preparação da infusão (como, por exemplo, a temperatura da água ou tempo em que a mistura permanecem em infusão) poderão ser melhorados. O aroma foi o parâmetro mais indicado como preferido.

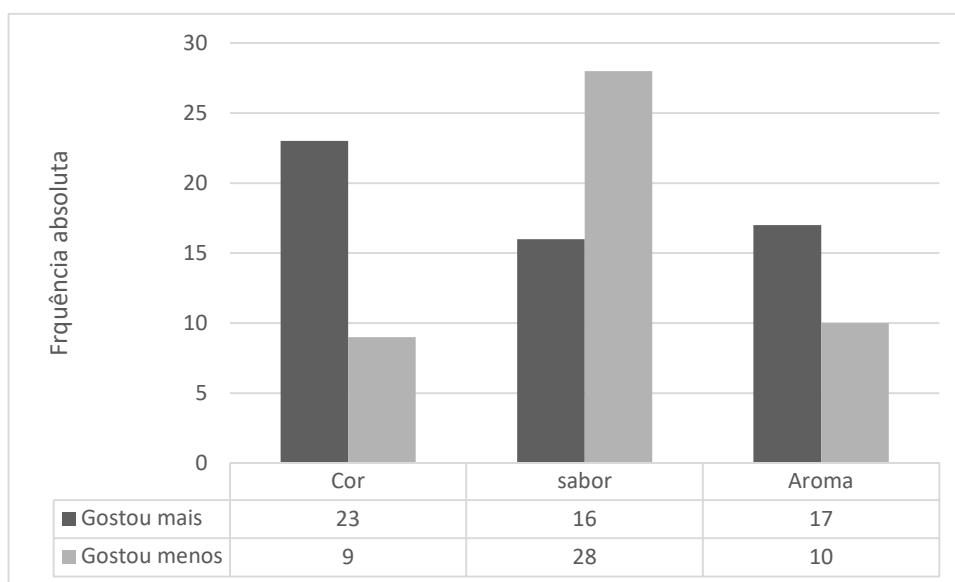


Figura 6.7. - "O que gostou mais" e "O que gostou menos" na amostra TN2

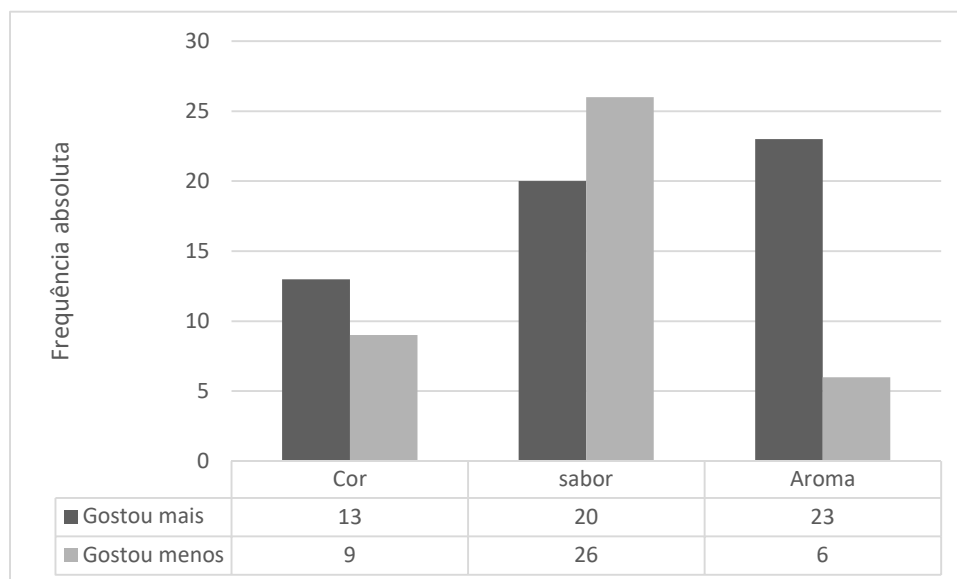


Figura 6.8. - "O que gostou mais" e "O que gostou menos" na amostra TN1

d. Amostra preferida

Quando questionada, qual a amostra preferida, 70,3% dos provadores respondeu que a amostra TN1 era a preferida. Na tabela 6.3. encontra-se a frequência relativa da preferência dos provadores pelas amostras.

Tabela 6.3. – Amostra Preferida, Frequência relativa (%)

Composição das fórmulas	Código atribuído	Frequência relativa (%)
Hiperício-do-gerês Tomilho-limão Canela Cravinho	TN1	70,3
Hiperício-do-gerês Manjerição canela Tomilho-limão Agastache Cravinho Sementes de cardamomo	TN2	29,7

Para determinar se a diferença entre as duas proporções de resposta é significativa foi aplicado o teste de Z para duas proporções, calculado utilizando o Microsoft Office Excel 2013

(Anexo A, Tabela 9.1). Visto que o valor de p (< 0.0001) é inferior ao nível de significância (0,01), deverá ser rejeitada a hipótese nula e aceite a hipótese alternativa. Desse modo a proporção de pessoas a preferir a amostra TN2 é significativamente inferior ao número de pessoas a preferir a amostra TN1.

e. Aquisição da amostra preferida

Como já mencionado anteriormente, não foi possível correlacionar os dados entre diferentes questões, uma vez que apenas era possível observar as frequências absolutas de resposta do grupo inquirido. Dessa forma não é possível observar separadamente os dados da questão “Compraria a sua amostra preferida” para cada uma das amostras. De qualquer forma é possível constatar na figura 6.9. que 57,8 % dos provadores assinalou a sua resposta entre as afirmações “sim”, “é quase certo”, “muito provavelmente” e “provavelmente” na escala e 6,3% dos inquiridos responderam que “não” adquiriam a infusão.

É importante reter que só foram consideradas as características sensoriais das infusões, e não foram tidos em conta fatores como o custo da embalagem ou disponibilidade no local de realização de compras. Por essa razão, os dados obtidos não seriam os dados reais de intenção de compra.

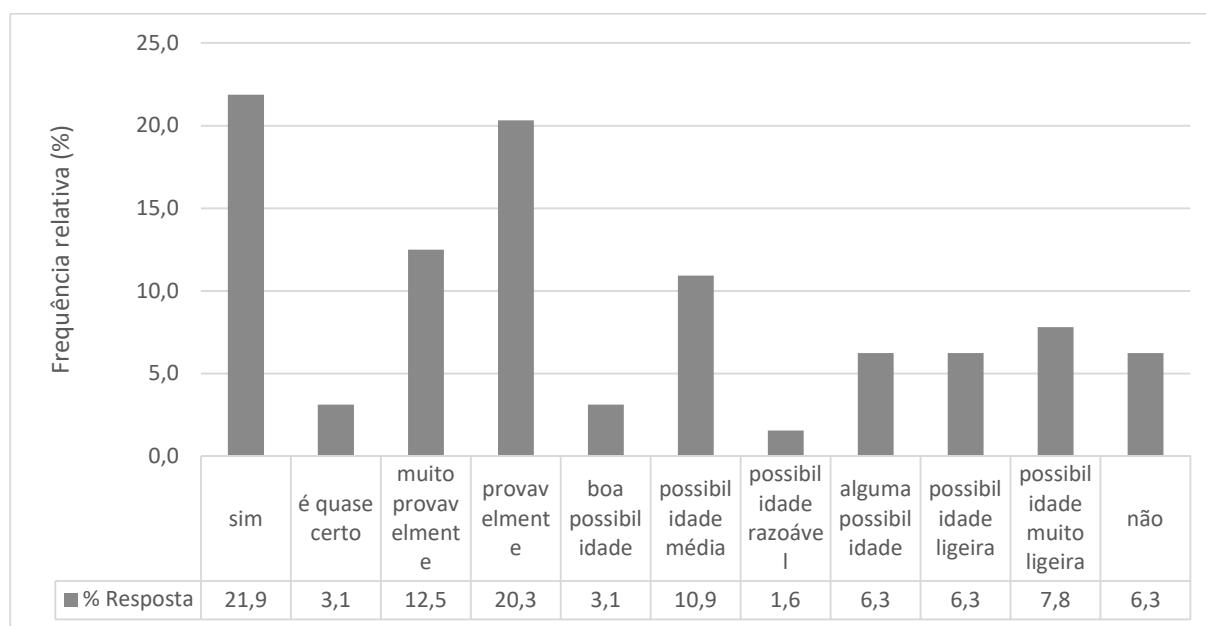


Figura 6.9. - Aquisição da amostra preferida (amostras TN1 e TN2)

f. Momento do consumo

Foi colocada a questão “Quando consumiria a sua infusão preferida” de modo a determinar se as fórmulas desenvolvidas eram associadas a determinados momentos de consumo. Determinar se as amostras eram associadas à época natalícia, objetivo para o qual foram desenvolvidas, ou se era atribuído outro momento. Nesta questão era possível resposta múltipla,

sendo permitido ao provador selecionar mais que uma resposta. Aqui também não foi possível observar separadamente os dados para cada uma das amostras (separar os inquiridos que preferiam a amostra TN1 dos que preferiam a amostra TN2).

A figura 6.10 representa a frequência de respostas dos inquiridos. Apenas 7,1% das respostas indicavam que a amostra preferida era associada a um perfil natalício. No entanto, a maior percentagem de repostas apontavam para que a infusão era associada a dias frios (41,4%) e que poderia ser consumida todo o ano (41,4%).

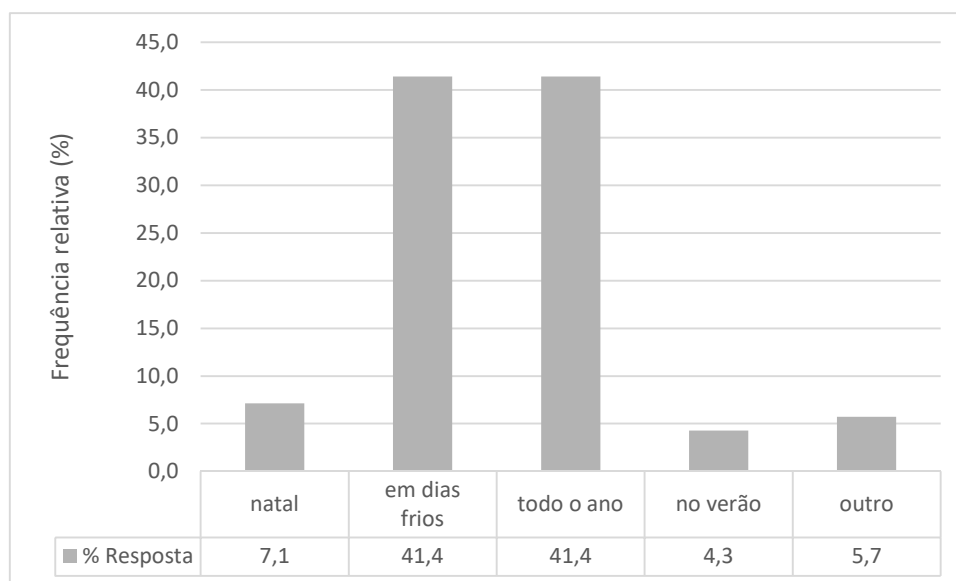


Figura 6.10. - Momento de consumo (amostras TN1 e TN2)

6.1.2.2. Misturas dedicadas à “temática” Frescura

a. Apreciação global das amostras TF1 e TF2

Os dados obtidos através da questão relativa à apreciação global das amostras TF1 e TF2 indicam que, potencialmente, poderiam ser bem aceites. A figura 6.11. representa os dados obtidos. 65,7% dos indivíduos assinalaram as suas respostas entre as afirmações “Gostei extremamente”, “Gostei muito” e “Gostei moderadamente” na escala, ao avaliar a amostra TF2. Ao avaliar a amostra TF1, no mesmo intervalo de resposta, 74,9% pessoas indicavam que gostavam da amostra. Estes dados indicam que as amostras têm potencialidade de serem bem aceites pelos consumidores.

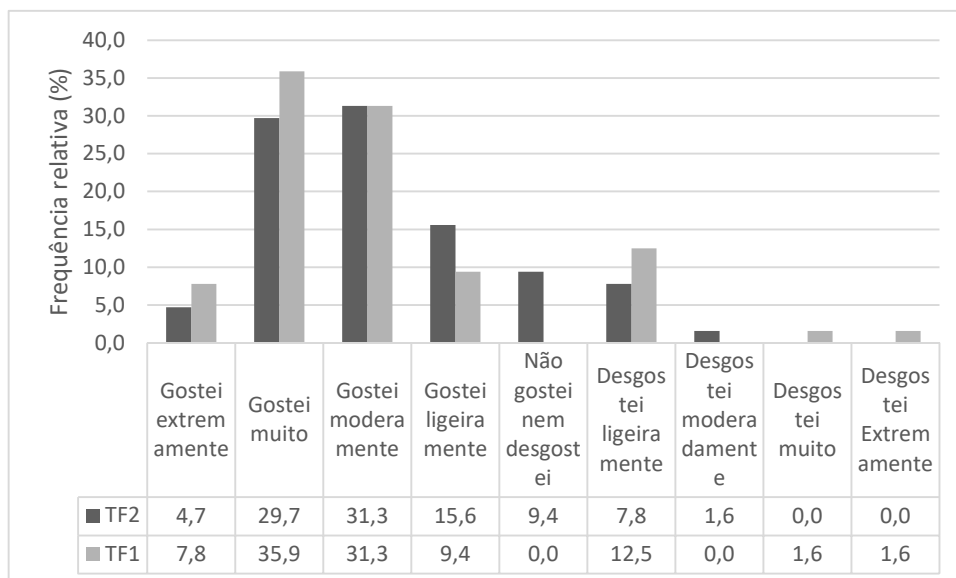


Figura 6.11. - Apreciação global das amostras TF1 e TF2

b. Avaliação do aroma, cor, sabor das amostras TF1 e TF2

Os dados referentes à avaliação de cada um dos parâmetros (aroma, cor e sabor) das duas amostras, sugerem que ambas as amostras poderiam ser bem aceites pelos consumidores. Nas figuras 6.12. e 6.13. é possível observar que a maioria de percentagem de respostas encontravam-se no intervalo de resposta “nem boa nem má” e “muito boa”.

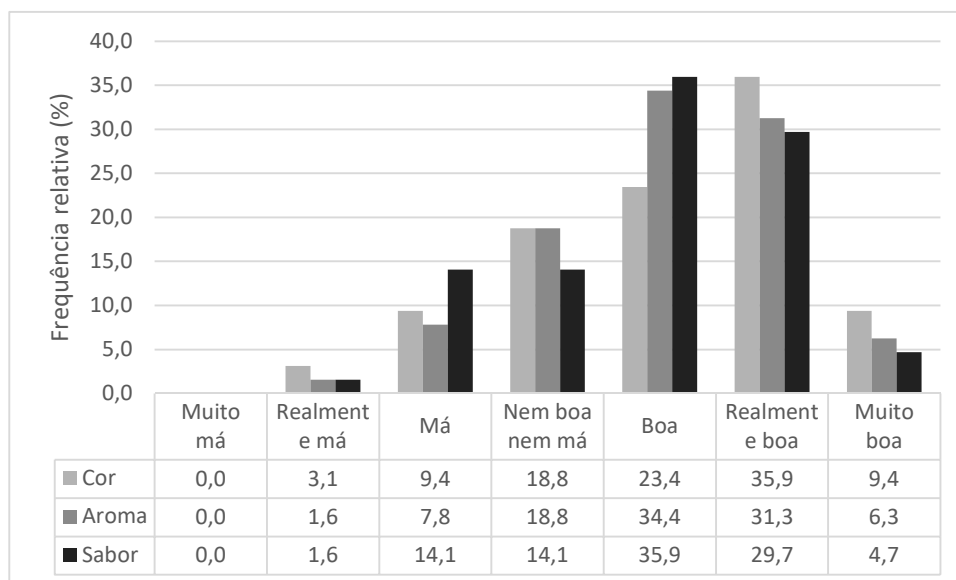


Figura 6.12. - Cor, Aroma e Sabor da amostra TF2

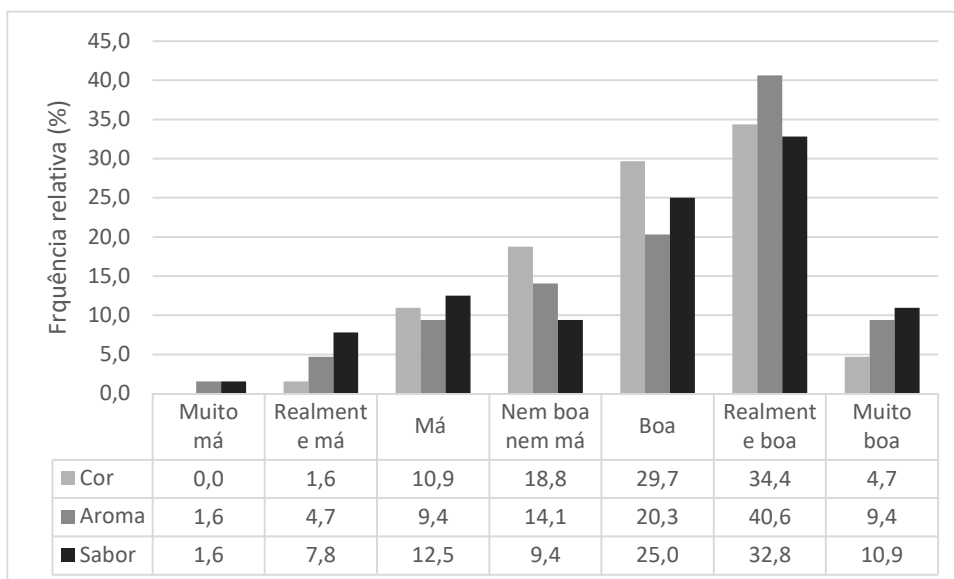


Figura 6.13. - Cor, Aroma e Sabor da amostra TF1

c. Aspectos que mais gostaram e que menos gostaram

Tal como referido anteriormente, ao responder a estas questões, o comentário do provador poderia referir-se a mais que um parâmetro. Nas figuras 6.14. e 6.15. encontram-se representadas as categorias das respostas. Relativamente à amostra TF2, o sabor e o aroma foram os parâmetros mais indicados como preferidos dos provadores (25 e 23 comentários, respetivamente). Todavia, o sabor foi também apontado como o parâmetro que menos gostavam, com 24 comentários. Isto sugere possivelmente que a fórmula ou os parâmetros de preparação da infusão poderão ser melhorados.

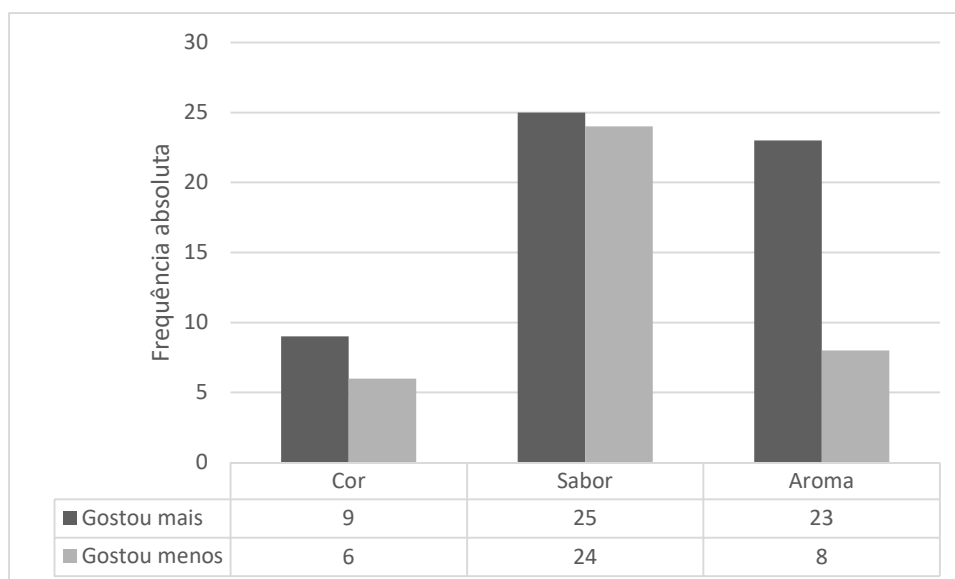


Figura 6.14.- "O que gostou mais" e "O que gostou menos" na amostra TF2

No que se refere à amostra TF1, o sabor também foi o parâmetro mais indicado como preferido (31 comentários), enquanto 17 comentários indicavam que era o parâmetro que menos gostavam.

Uma vez que os resultados obtidos através da aplicação desta questão, em todas as amostras do projeto, foram limitados. Poderia ser pertinente realizar um estudo complementar, de forma a determinar em que sentido realizavam o seu comentário, dado que muitos dos comentários apenas indicavam o parâmetro, não indicando o motivo da resposta. Isto poderia dar um indicar como as infusões poderiam ser melhoradas.

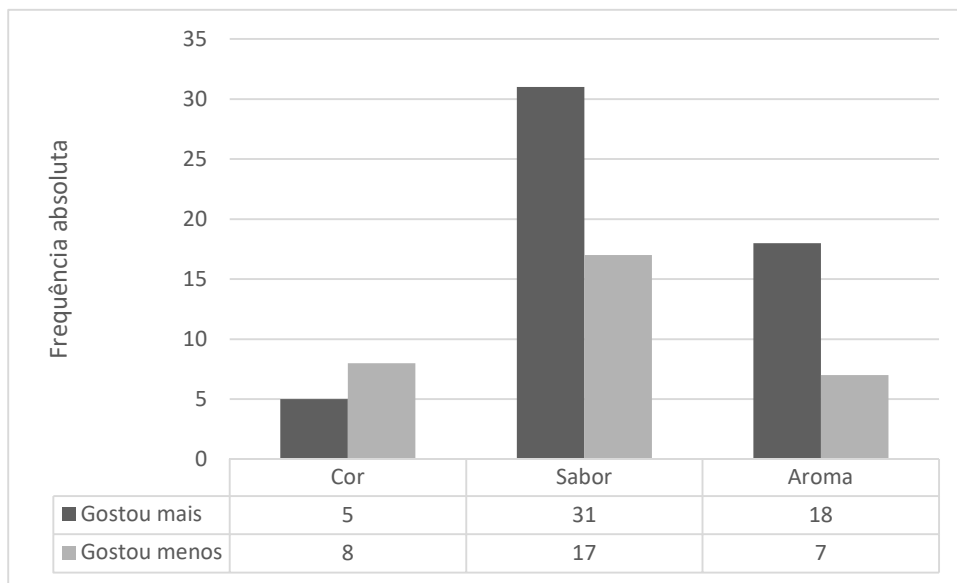


Figura 6.15. - "O que gostou mais" e "O que gostou menos" na amostra TF1

d. Amostra preferida

A tabela 6.4. representa a frequência relativa de resposta quanto à preferência entre as amostras TF1 e TF2. É possível observar que 60,9% dos provadores preferiu a amostra TF1 enquanto 39,1% preferiu a amostra TF2.

Tabela 6.4. - Amostra Preferida, Frequência relativa (%)

Composição das fórmulas	Código atribuído	Frequência relativa (%)
Lima-kaffir Hortelã-vulgar Manjerição-limão Perpétua-rosa Alfazema	TF1	60,9
Hortelã-vulgar Lima-kaffir Limonete Perpétua-rosa	TF2	39,1

À semelhança da avaliação do par de amostras anterior, foi aplicado o teste de Z para duas proporções, de forma a determinar se a diferença entre as duas proporções de resposta é significativa. Na tabela 9.2. do anexo A encontra-se o cálculo realizado através do Microsoft Office Excel 2013. Dado que o valor de p (0,014) é inferior ao nível de significância (0,05), rejeita-se a hipótese nula. As duas proporções são diferentes, sendo que a proporção de pessoas a preferir a amostra TF2 é significativamente menor do que o número de pessoas a preferirem a amostra TF1.

e. Aquisição da amostra preferida

Relativamente à amostra preferida, os dados sugerem que existe uma boa possibilidade da sua aquisição. Quando colocada a questão relativa à potencial aquisição do produto, 57,8 % dos inquiridos respondeu entre as seguintes afirmações “sim”, “é quase certo” e “muito provavelmente”. Isto indica que, tendo em conta as características sensoriais, a amostra preferida tinha uma boa aceitabilidade. É importante referir que não foi possível observar os dados separadamente para cada uma das duas amostras. Uma vez que só era considerada a componente sensorial, os resultados não refletiam a real intenção de compra do produto. Na figura 6.16 estão representados os dados obtidos através da aplicação desta questão.

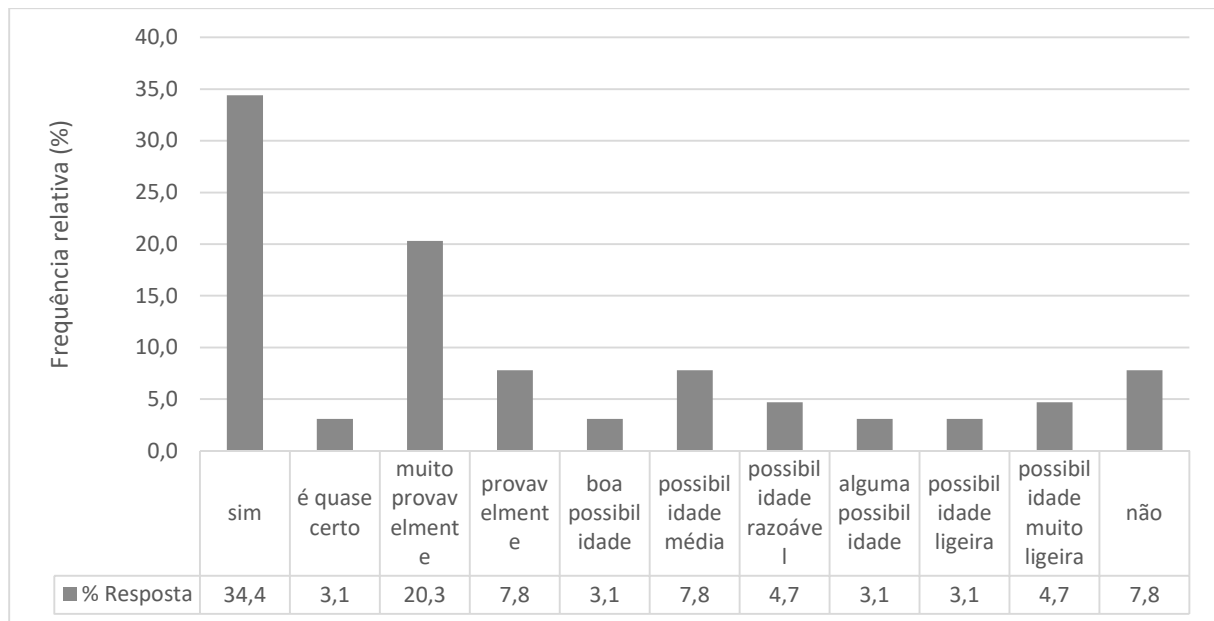


Figura 6. 16.- Aquisição da amostra preferida (amostras TF1 e TF2)

f. Momento do consumo

Quando colocada a questão “Quando consumiria a sua infusão preferida”, 52,9% das respostas indicavam o consumo durante todo o ano. 33,8% das respostas indicam que o consumo seria realizado em dias frios. Na análise da figura 6.17. é importante relembrar que esta questão era de escolha múltipla, sendo possível ao inquiridos escolher mais que uma opção de resposta. Nesta questão também não foi possível observar separadamente os dados referentes a cada uma das amostras. O inquirido respondia a esta questão para avaliar a sua amostra preferida.

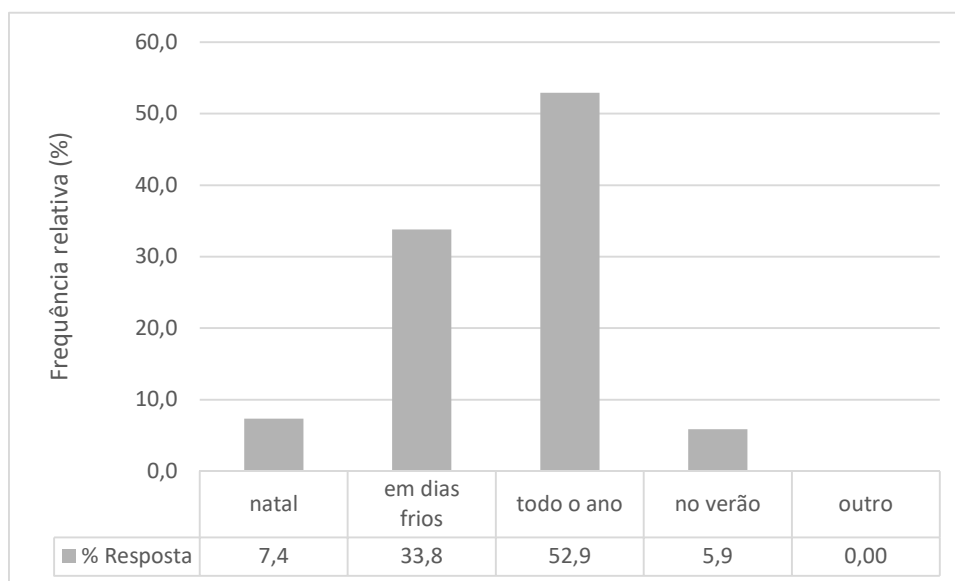


Figura 6.17. – Momento de consumo (amostras TF1 e TF2)

6.2. Análise química dos compostos voláteis

Através da aplicação da análise por cromatografia gasosa com detector de massa (GC-MS) foi possível obter os cromatogramas representados na figura 6.18.

Para os picos que se encontram em comum entre as misturas, foram identificados os seus respectivos compostos voláteis. A identificação foi possível por aproximação, comparando o espectro de massa real do composto e os espectros presentes na base de dados NIST e por comparação com alguns padrões disponíveis na ESB, sabendo os seus tempos de retenção (obtidos por calibração prévia). Idealmente, para uma correta identificação, todos os picos das cromatografias das misturas deveriam ser comparados com as cromatografias dos padrões de cada composto volátil. Isso permitiria identificar com certeza o composto.

Na identificação é também imprescindível considerar a possibilidade de ter ocorrido a degradação de alguns compostos voláteis, uma vez que as misturas foram preparadas 1 mês antes de ser realizado o teste químico. Apesar de terem sido devidamente armazenadas (isoladas, sem permitir a entrada de luz e ar), não é possível afirmar que não poderia ter ocorrido alguma degradação de compostos. Na preparação das infusões também poderá ter ocorrido a perda e degradação de compostos. Isto dificulta a identificação dos óleos essenciais. Os compostos para os quais foi fazer a possível comparação com os seus padrões foram: D-limoneno, α -tujona, linalol / acetato linalilo, nerol, geraniol, cinamaldeído e eugenol. É importante referir que não foi possível identificar todos os compostos das misturas, tendo-nos focado nos picos com maior área.

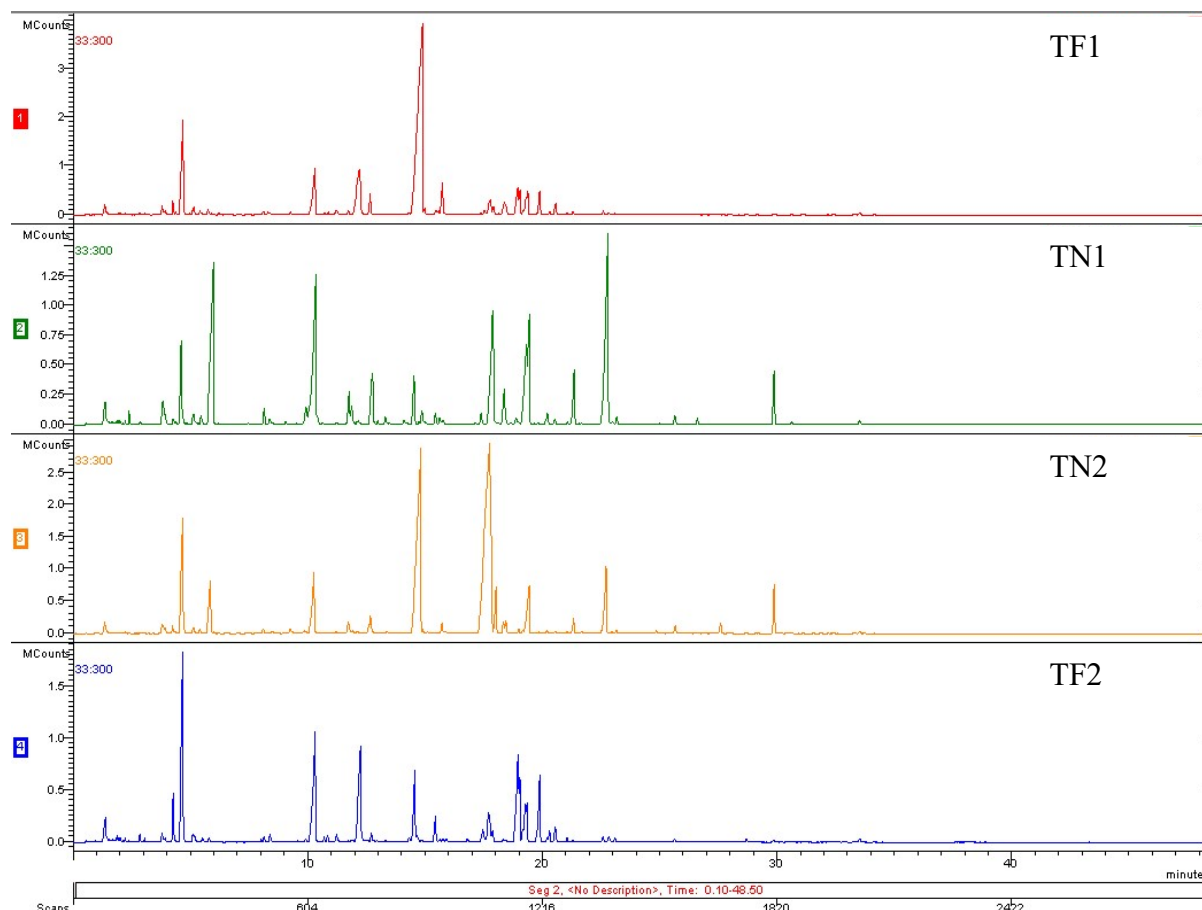


Figura 6.18. - Cromatograma das misturas do projeto (TN1 e TN2 – misturas desenvolvidas para a “temática” Natal, TF1 E TF2 – misturas desenvolvidas para a “temática” Frescura)

Para cada composto identificado foi calculada a sua área (recorrendo ao programa de espectro de massa), área normalizada (área do pico do composto dividida pela área do pico do padrão interno) e a sua respetiva percentagem. Para alguns compostos também foi possível determinar a sua concentração na mistura, através da multiplicação do valor de K do composto (fator de resposta, obtido previamente por calibração) pela área normalizada do composto volátil. No apêndice C encontram-se as tabelas 10.1. e 10.2. com os resultados obtidos. Na lista de compostos observados nas misturas, existem alguns que não foram identificados. Porém, ao observar o espectro de massa do composto e o seu respetivo “tempo de retenção” é possível que sejam o mesmo composto, que aparece no mesmo minuto em diferentes misturas.

6.2.1 Misturas dedicadas à “temática” Natal

a. Composição das misturas dedicadas à “temática” Natal

Relativamente à amostra TN1, é possível observar na figura 6.19 as áreas dos compostos voláteis identificados. A área identificada não corresponde a toda a área do cromatograma.

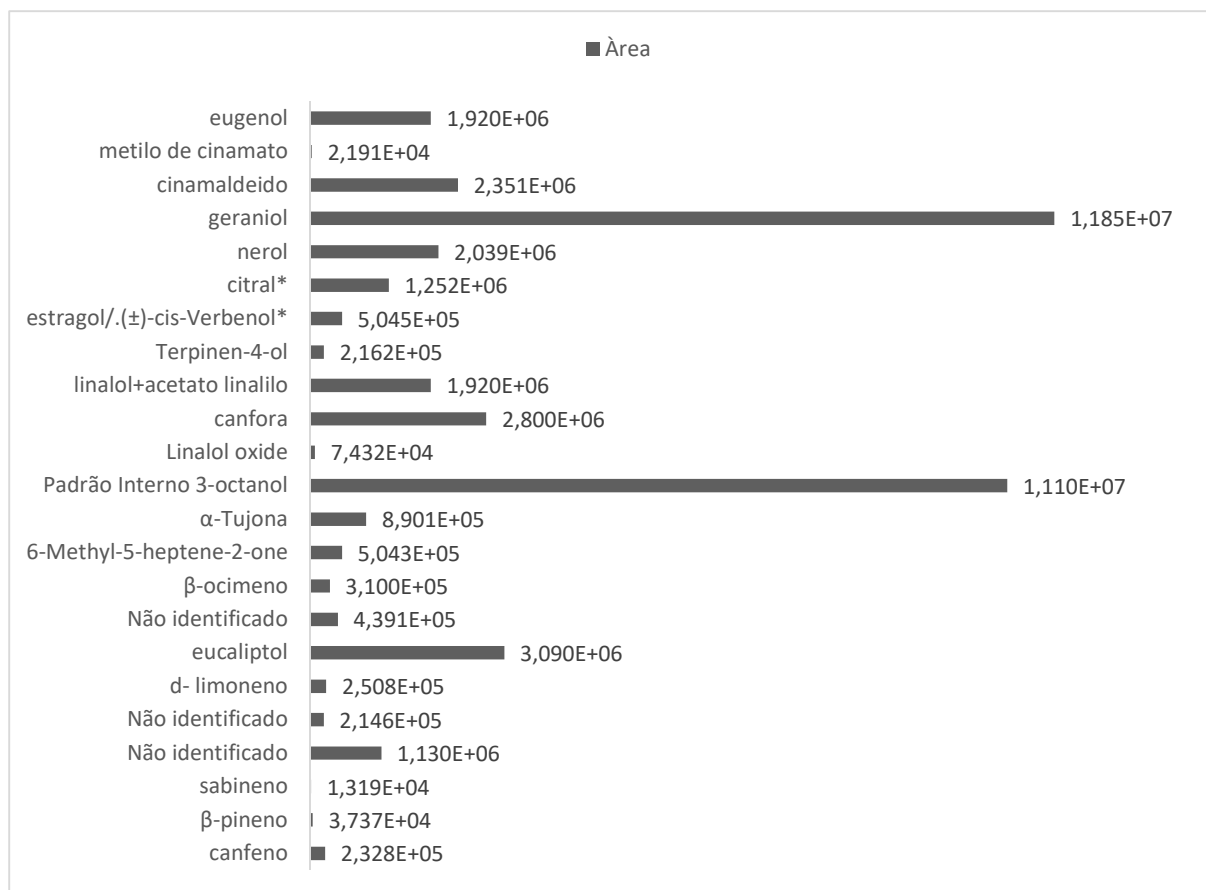


Figura 6.19 - Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TN1

O geraniol foi o composto volátil identificado com maior área. A sua presença vai ao encontro da pesquisa realizada, dado que era um dos compostos presentes em maior concentração no tomilho-limão, ingrediente da mistura. De acordo com Encyclopedia of Microbiology e Sensory-Directed Flavor Analysis, o geraniol transmite sensorialmente notas de rosas, de doçura e frutados (Marsili, 2006; Schaechter, 2009).

O eucaliptol e a cânfora foram o segundo e terceiro compostos com maior concentração, apesar da cânfora não terem sido referenciada na literatura como um composto que poderia estar em maior concentração nas ervas que compõem a fórmula. O eucaliptol transmite um flavor de “mentolado picante”(Marsili, 2006).

A existência de nerol e citral também era esperada, segundo a composição do tomilho limão encontrada na literatura. O nerol confere à infusão notas florais, frescura, doçura e de sabor amargo (Schaechter, 2009). O citral dá à infusão uma fragrância cítrica, a limão (Marsili, 2006; Omidbaigi, Sefidkon & Hejazi et al., 2005).

Compostos como o eugenol e o cinamaldeído eram também previstos devido à presença de cravinho e canela. O cinamaldeído é o composto volátil responsável pelo sabor doce, característico da canela (Yokomi & Ito, 2009).

A existência de β -pineno e limoneno também tinha sido aguardada devido à utilização do hipericão do gerês como ingrediente.

Nesta avaliação, é necessário ter em conta a possibilidade de alguns dos compostos referenciados na pesquisa química terem sido degradados na preparação das infusões. Regra geral, os artigos que fundamentaram a pesquisa eram estudos realizados com ervas aromáticas (estado fresco ou seco) e não em infusões.

Quanto à amostra TN2 é possível observar a sua composição em óleos essenciais e suas respectivas áreas na figura 6.20.

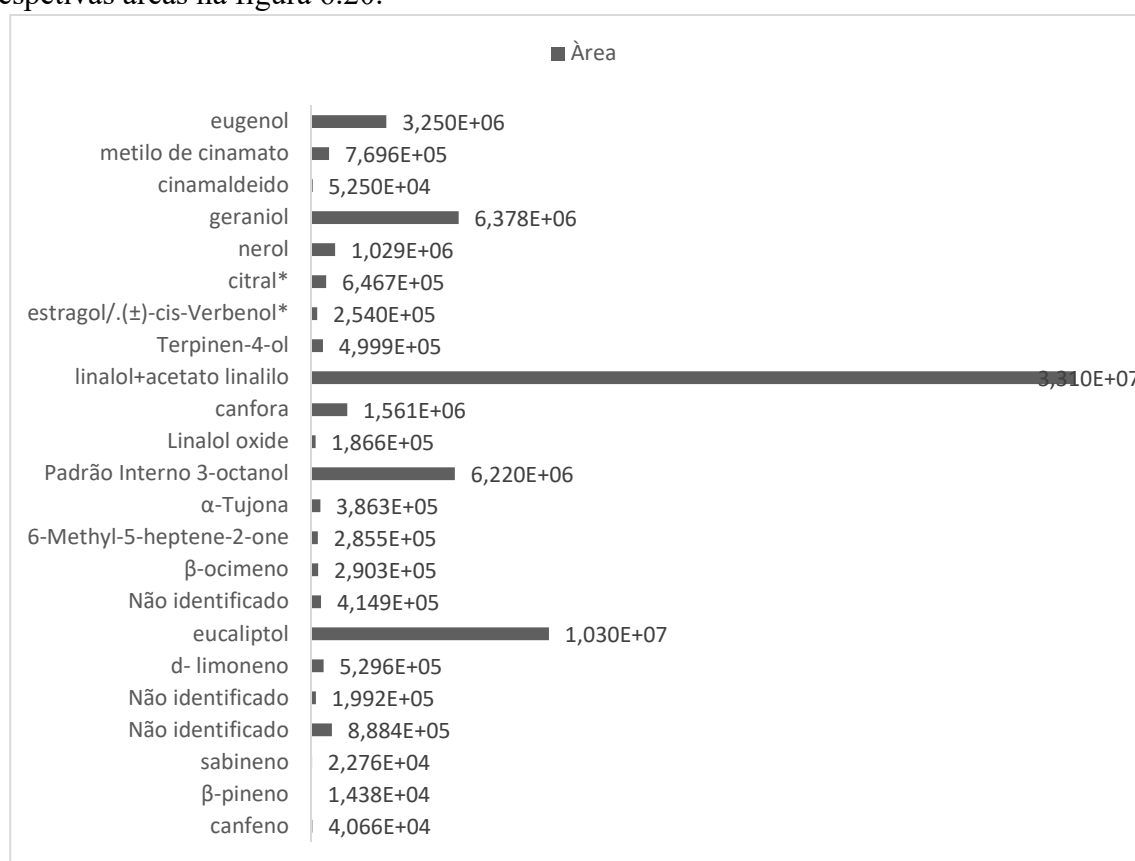


Figura 6.20. Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TN2

O composto que teve maior área na cromatografia desta mistura foi o linalol /acetato de linalilo (na análise do espectro de massa não é possível distinguir os dois compostos devido ao seu padrão de fragmentação ser semelhante). Este dado vai ao encontro da literatura, uma vez que o linalol tinha sido apontado como um dos principais constituintes do óleo essencial do manjeriço canela e das sementes de cardamomo. A presença do linalol confere notas florais, cítricas, de frescura e adocicadas à infusão (Esharif, Banerjee, & Buettner, 2015).

O eucaliptol e geraniol encontravam-se na segunda e terceira posição dos compostos voláteis com maior teor na mistura.

Tal como esperado, foi possível encontrar na amostra: geraniol, citral e nerol provavelmente devido ao tomilho-limão; eugenol por causa do cravinho; e de metilo cinamato e eucaliptol pela presença de manjeriço canela na fórmula. É o metilo cinamato que dá as notas de canela ao manjeriço (Wesolowska, Kosecka & Jadczaek et al., 2012).

b. Comparação da composição das amostras TN1 e TN2

Na figura 6.21. estão representadas as percentagens de cada composto volátil identificado nas duas amostras de natal. Estes valores também se encontram na tabela 10.1. do apêndice C.

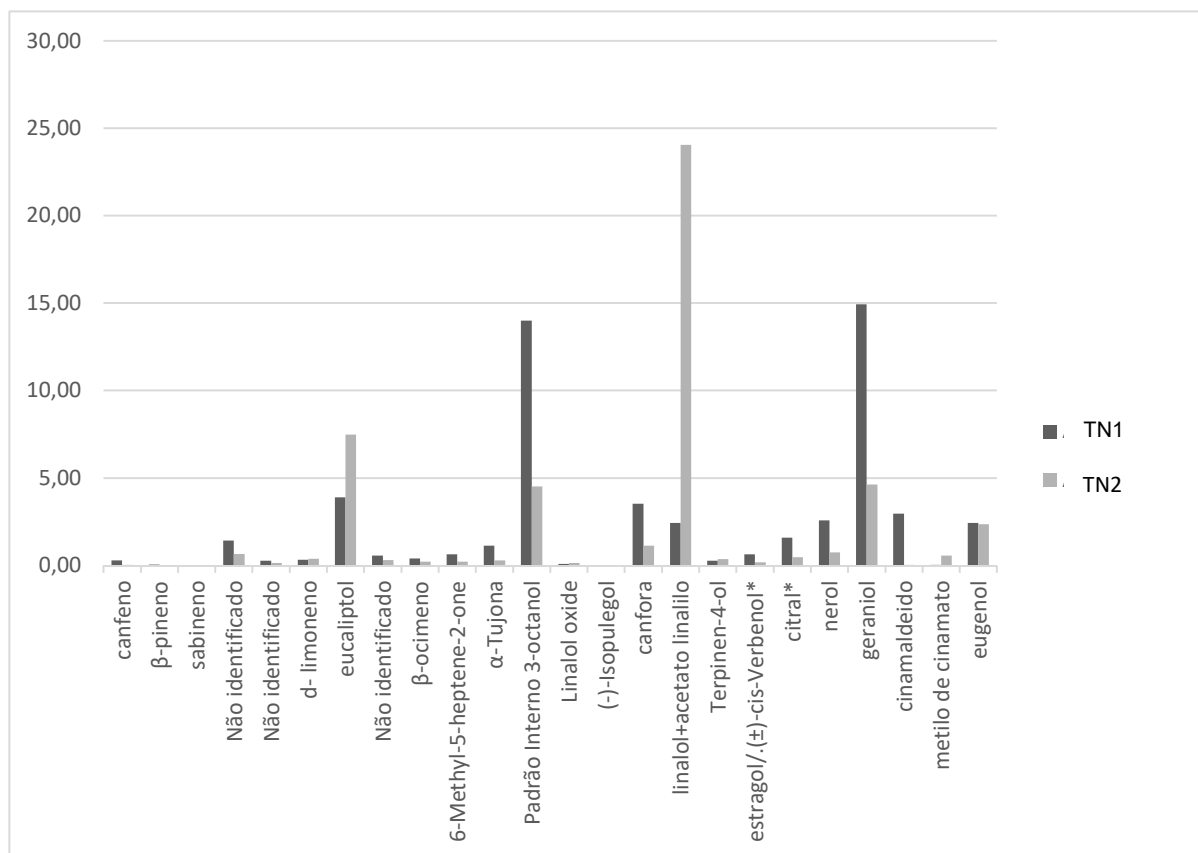


Figura 6.21. - Percentagem de cada composto volátil identificado nas amostras TN1 e TN2

De uma forma geral, as duas amostras continham compostos voláteis com áreas muito semelhantes, as maiores diferenças observaram-se no que se refere aos teores em eucaliptol, linalol / acetato de linalilo, geraniol, cinamaldeído. A diferença quanto ao teor em linalol / acetato de linalilo, possivelmente dever-se-á ao facto da mistura TN2 conter manjerição-canela e sementes cardamomo (que na sua constituição contêm linalol). Esses ingredientes não fazem parte da fórmula da amostra TN1. O cinamaldeído é um óleo essencial característico da canela. Por essa razão, faz sentido existir em maior quantidade na amostra TN1. Relativamente ao geraniol, a amostra TN1 apresentou maior percentagem de área, tornando esta infusão mais floral e frutada.

Como referido anteriormente, a amostra TN1 foi a preferida nos testes de preferência e aceitabilidade junto do consumidor.

c. Concentração de alguns compostos

Como referido anteriormente, foi possível determinar a concentração de alguns dos compostos presentes nas misturas, através da multiplicação do valor de k pela área normalizada (área do composto sobre área do padrão interno). Na tabela 6.5. encontram-se as concentrações de linalol/ acetato de linalilo, nerol, geraniol e eugenol das misturas natalícias.

Tabela 6.5.- Concentrações de alguns compostos presentes nas misturas natalícias

Concentrações do composto (mg/l)	Amostra TN1	Amostra TN2
linalol/ acetato de linalilo	1,674E-01	5,15E+00
nerol	5,584E-01	5,03E-01
geraniol	6,790E+00	6,52E+00
eugenol	3,010E+00	9,09E+00

6.2.2. Misturas dedicadas à “temática” Frescura

a. Composição das misturas dedicadas à “temática” Frescura

Na figura 6.22. estão representadas as áreas dos compostos da amostra TF1, cuja identificação foi possível.

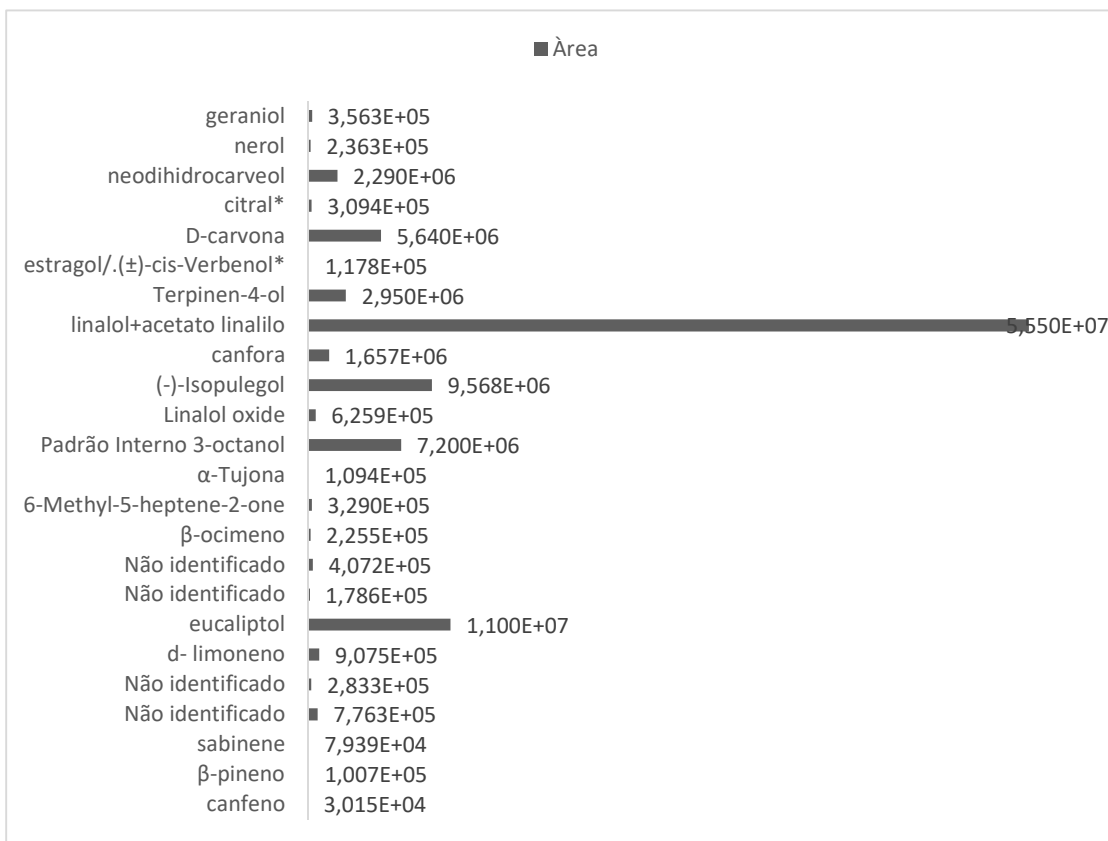


Figura 6.22. - Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TF1

No que se refere à amostra TF1, o linalol / acetato de linalilo foi o composto com maior área no cromatograma. Este dado encontra-se de acordo com a literatura, dado ser o composto volátil principal do óleo essencial da alfazema. Como já referido anteriormente, o linalol e acetato de linalilo conferem notas florais, cítricas, de frescura e a sensação de doce à infusão. O eucaliptol e o isopulegol eram o segundo e terceiro compostos com maior proporção na mistura. Uma vez que o isopulegol é um dos principais constituintes do óleo essencial da lima-kaffir e este ingrediente encontra-se em maior proporção na fórmula, faz sentido a sua prevalência na mistura. O isopulegol transmite à infusão uma sensação de frescura, aroma a menta e um sabor pouco amargo (Rowe, 2004).

Na figura 6.23. contem as áreas dos compostos identificados na amostra TF2.

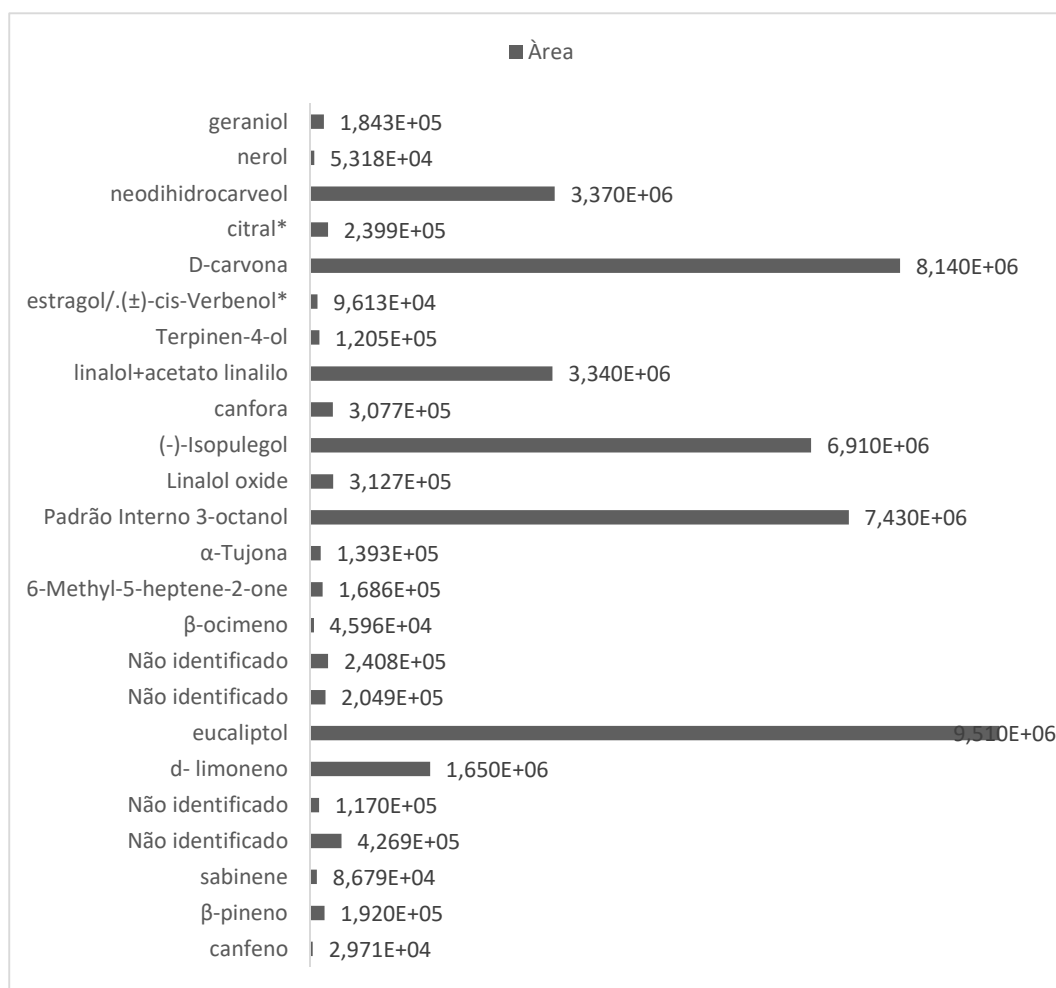


Figura 6.23.- Áreas dos compostos voláteis identificados na amostra TF2

O eucaliptol foi composto em maior teor na infusão TF2, sendo responsável por um flavor de “menta picante” na infusão.

O isopulegol, D-carvona e neodihidrocarveol também se encontravam em grande proporção na mistura. Devido à presença de hortelã-vulgar na fórmula, já era esperada a presença de carvona e neodihidrocarveol.

b. Comparação da composição das amostras TF1 e TF2

Na figura 6.24. encontram-se representadas as percentagens de área de cada composto identificado nas amostras. As percentagens também encontram-se presentes na tabela 10.2. no apêndice C.

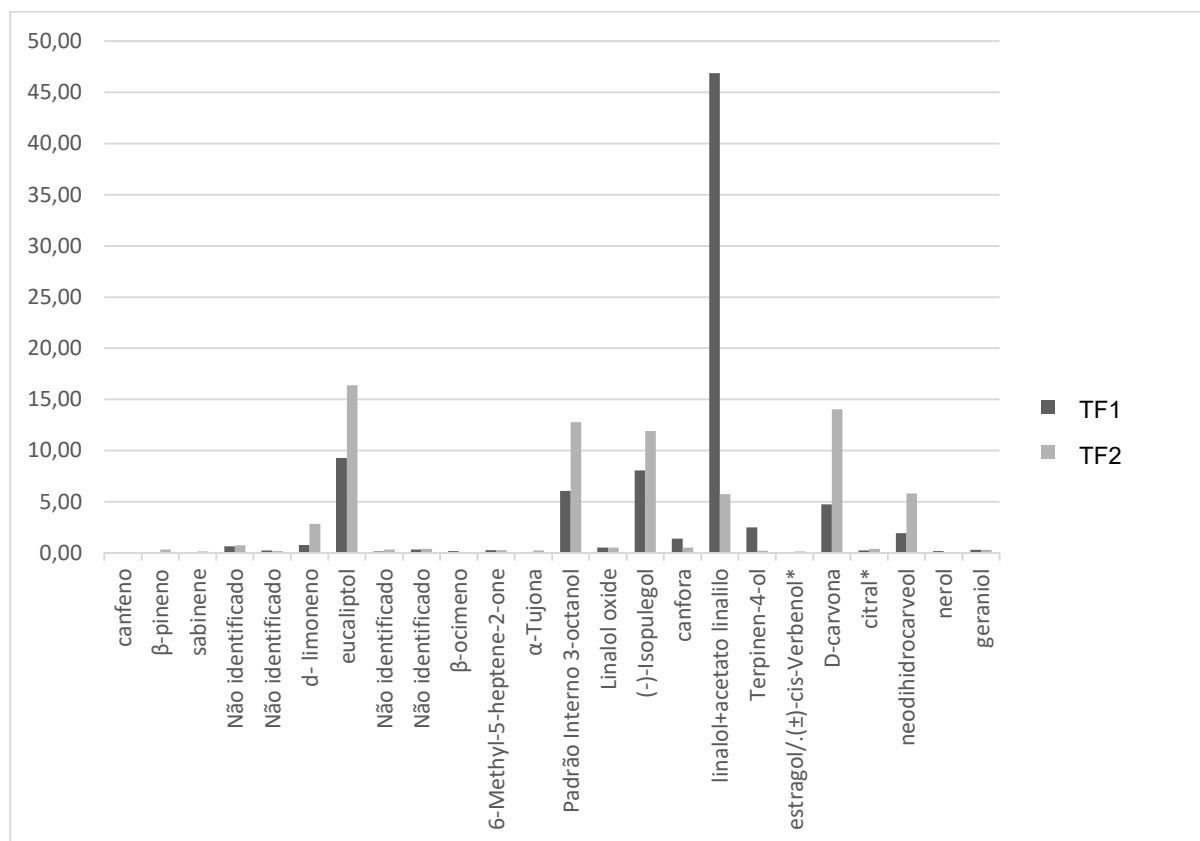


Figura 6.24. – Percentagem de cada composto volátil identificado nas amostras TF1 e TF2

A amostra TF1 era mais rica em linalol / acetato de linalilo comparativamente com a amostra TF2. Estes compostos conferem à infusão notas florais, cítricas, de frescura e a sensação de doce.

A amostra TF2 tinha relativamente maior concentração de eucaliptol, isopulegol, carvona e neodihidrocarveol. Os dois últimos encontram-se maioritariamente na hortelã-vulgar, fazendo sentido estar presentes na amostra TF2. O isopulegol tinha sido apontado como um dos principais constituintes do óleo essencial da lima-kaffir. Apesar da mistura TF2 ter menor proporção desta planta na fórmula, esta apresentou maior teor de isopulegol comparativamente com a TF1. Apesar de na pesquisa química não ter sido encontrado, o isopulegol poderá estar presente em outras plantas que fazem parte da constituição da fórmula. Poderão ter ocorrido também perda de óleos essenciais na preparação das infusões ou então ser resultado da interação dos compostos voláteis. Isto, potencialmente, poderá explicar a diferença.

Os restantes compostos voláteis apresentaram valores relativamente próximos para as duas tisanas.

É importante lembrar que a amostra TF1 foi a preferida pelos inquiridos no teste de preferência e aceitação das infusões.

c. Concentração de alguns compostos

Também foi possível determinar a concentração de alguns dos compostos referentes às misturas dedicadas à “temática frescura”, através da multiplicação do valor de K pela área normalizada (área do composto sobre área do padrão interno). Na tabela 6.6 estão representadas essas concentrações.

Tabela 6.6. Concentrações de alguns compostos presentes nas misturas de frescura

Concentrações do composto (mg/l)	Amostra TF1	Amostra TF2
linalol / acetato de linalilo	7,462E+00	4,351E-01
nerol	9,976E-02	2,176E-02
geraniol	3,148E-01	1,578E-01

7. Conclusões gerais

O termo “chá” tem vindo a ser utilizado erradamente pelo consumidor para designar todas as bebidas obtidas através da imersão de partes de plantas em água fervente. Aquando da utilização de ervas aromáticas poderão ser utilizados os termos “infusão” ou “tisana”. O termo “infusão” é genérico e poderá ser também aplicado ao chá, tisanas ou café, uma vez que designa um método de imersão de partes de plantas em água fervente durante um período de tempo. Quanto à possibilidade da utilização do termo “tisana” na inclusão da *Camellia sinensis* em *blends* ainda não se encontra rejeitada. Cada vez mais, nos últimos anos tem existido uma preocupação por parte da Indústria em diferenciar os produtos para a preparação de chá (provenientes da *Camellia sinensis*) dos produtos para tisanas. Todavia, existe ainda um longo caminho a percorrer para que esta terminologia seja de conhecimento geral junto do consumidor.

A metodologia aplicada na componente sensorial do presente trabalho de mestrado permitiu cumprir o objetivo do trabalho: desenvolver tisanas, mais concretamente misturas de ervas aromáticas para a preparação de infusões. Foi possível observar aceitabilidade e preferência das misturas desenvolvidas na fase de formulação e determinar quais as que apresentam maior potencial de sucesso junto do consumidor. Porém, é necessário ter em consideração que os participantes poderiam não fazer parte do público-alvo do produto, uma vez que não foram colocadas questões relativas ao estilo de vida, rendimentos ou até mesmo quais os locais habituais de aquisição deste tipo de produtos. A impossibilidade de correlacionar os dados obtidos em diferentes questões também limitou os resultados do estudo. Outros estudos poderiam ser aplicados após a realização do presente trabalho, como mencionado no ponto relativo aos trabalhos futuros. Relativamente à componente química do projeto, foi possível identificar alguns compostos através da comparação com os tempos de saída dos seus padrões e os seus espectros de massa. Outros compostos apenas foram identificados por aproximação do espectro real com o espectro presente na base de dados, sendo possível uma incorreta identificação dos seus compostos. Idealmente, os compostos deveriam ser identificados através da sua comparação com os seus respetivos padrões. Isto iria permitir caracterizar a composição das misturas. Devido à limitação de tempo disponível, não foi possível realizar o estudo dessa forma. Muitos dos estudos encontrados na pesquisa relativa a composição dos óleos essenciais referiam-se a plantas e não a infusões, existindo à possibilidade de perda de compostos voláteis na preparação das infusões.

8. Sugestões para trabalhos futuros

Alguns estudos sensoriais poderiam ainda ser realizados após a realização do trabalho de mestrado.

Nos testes de preferência e aceitabilidade poderiam ter sido colocadas outras questões para complementar a caracterização dos consumidores nos testes de preferência. Dado que os produtos do Cantinho das Aromáticas são comercializados no mercado biológico e no gourmet, poderia ter sido questionado aos participantes quais as marcas ou locais onde usualmente fazem as suas compras, assim como qual a média dos seus rendimentos. Uma vez que estes produtos têm também um posicionamento saudável, seria interessante colocar questões relativas ao seu estilo de vida. Dada a extensão do questionário não foi possível realizar essas questões. No entanto, poderia ser pertinente a recolha destas informações de forma a determinar se o grupo faz parte do segmento de consumidores que se pretende atingir.

Poderia ser aplicada a metodologia C.A.T.A. de modo a determinar se as fórmulas das misturas para infusão se enquadram ao tema a que se propõem (“Natal” e “Frescura”). Poderia ser novamente testada a aceitabilidade e preferência das fórmulas, variando a concentração dos seus ingredientes, aplicando uma metodologia semelhante à utilizada fase de testes sensoriais junto do consumidor do presente projeto de mestrado. A condução de *focus groups* poderia ser também interessante para a descrição sensorial das infusões que poderia ser incluída nos rótulos das embalagens (à semelhança do que tem vindo a ser feito para outros produtos do Cantinho das Aromáticas). Testes relativos ao tempo de prateleira poderiam também ser realizados, de forma a determinar se o tempo que as ervas aromáticas permanecem em mistura afeta sensorialmente a sua infusão. Estudos relativos ao tipo de embalagem também poderiam ser conduzidos, mais concretamente quanto à mistura natalícia, uma vez que se pretendia destacar esta mistura em relação aos restantes produtos já comercializados dentro da linha das misturas para infusão.

Quanto à análise química, poderia ser interessante comparar a composição em óleos essenciais das infusões resultantes das misturas com composição da infusão de cada erva aromática de forma isolada. A interação entre os diferentes compostos voláteis das diferentes ervas aromáticas poderá alterar a composição da infusão (Gutierrez, Barry-Ryan, & Brouke, 2008).

9. Anexos

Anexo A – Tabelas referentes ao Teste de Z para duas proporções

Tabela 9.1. - Teste de Z para duas proporções para as amostra TN1 e TN2

Frequency 1: 19	
Sample size 1: 64	
Frequency 2: 45	
Sample size 2: 64	
Hypothesized difference (D): 0	
Variance: $p_1q_1/n_1+p_2q_2/n_2$	
Significance level (%):	
Seed (random numbers): 813325697	
z-test for two proportions / Two-tailed test:	
99% confidence interval on the difference between the proportions:	
] -0,614 , -0,198 [
Difference	-0,406
z (Observed value)	-4,933
z (Critical value)	2,576
p-value (Two-tailed)	< 0.0001
Alfa	0,01
Test interpretation:	
H0: The difference between the proportions is equal to 0.	
Ha: The difference between the proportions is different from 0.	
As the computed p-value is lower than the significance level $\alpha=0.01$, one should reject the null hypothesis H0, and accept the alternative hypothesis Ha.	
The risk to reject the null hypothesis H0 while it is true is lower than 0.01%.	

Tabela 9.2. - Teste de Z para duas proporções para as amostras TF1 e TF2

Frequency 1: 25	
Sample size 1: 64	
Frequency 2: 39	
Sample size 2: 64	
Hypothesized difference (D): 0	
Variance: $p_1q_1/n_1+p_2q_2/n_2$	
Significance level (%): 5	
Seed (random numbers): 248634103	
z-test for two proportions / Two-tailed test:	
95% confidence interval on the difference between the proportions:	
] -0,388 , -0,050 [
Difference	-0,219
z (Observed value)	-2,446
z (Critical value)	1,960
p-value (Two-tailed)	0,014
alpha	0,05
Test interpretation:	
H0: The difference between the proportions is equal to 0.	
Ha: The difference between the proportions is different from 0.	
As the computed p-value is lower than the significance level $\alpha=0.05$, one should reject the null hypothesis H0, and accept the alternative hypothesis Ha.	
The risk to reject the null hypothesis H0 while it is true is lower than 1.45%.	

10. Apêndices**Apêndice A – Exemplo de folha de prova**

1. “Tisana de Natal” - Classifique de acordo com à sua preferência (1 menos preferido, 5 mais preferido).

Código	1	2	3	4	5
RE208					
TA593					
ZI746					
NO105					
VU877					

Apêndice B – Questionário desenvolvido para a realização dos testes de preferência e aceitabilidade

(Abaixo encontra-se o questionário aplicado para avaliação da tisana de natal, o mesmo questionário foi aplicado à tisana de frescura.)

Q1 Muito obrigada por participar neste estudo de aceitabilidade, realizado no âmbito de um projeto de mestrado em Biotecnologia e Inovação da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica do Porto. O presente projeto tem como objetivo o desenvolvimento de misturas de ervas aromáticas para infusão. Os resultados deste estudo permitirão uma melhor avaliação dos produtos em estudo. A informação individual será tratada de forma confidencial e os resultados deste estudo serão reportados sem que os seus dados pessoais sejam divulgados. Os produtos foram preparados respeitando todas as regras de higiene e segurança aplicáveis. Se tiver alergias alimentares por favor não participe neste estudo. A sua participação é voluntária e em qualquer momento poderá desistir do teste. Estamos à sua disposição para prestar quaisquer informações complementares que considere importantes.

- Li e compreendi a informação acima e pretendo participar no estudo (1)
- Não pretendo participar no estudo (2)

If Não pretendo participar no ... Is Selected, Then Skip To End of Survey

Q2 Leia cuidadosamente as instruções. Por favor não troque impressões com outras pessoas. Não existem respostas certas ou erradas, o importante é podermos obter a sua opinião.

Q3 Sexo

- Masculino (1)
- Feminino (2)

Q4 Idade

- | | | |
|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| <input type="radio"/> 18 (1) | <input type="radio"/> 22 (5) | <input type="radio"/> 26 (9) |
| <input type="radio"/> 19 (2) | <input type="radio"/> 23 (6) | <input type="radio"/> 27 (10) |
| <input type="radio"/> 20 (3) | <input type="radio"/> 24 (7) | <input type="radio"/> 28 (11) |
| <input type="radio"/> 21 (4) | <input type="radio"/> 25 (8) | <input type="radio"/> 29 (12) |

- | | | |
|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| <input type="radio"/> 30 (13) | <input type="radio"/> 46 (29) | <input type="radio"/> 62 (45) |
| <input type="radio"/> 31 (14) | <input type="radio"/> 47 (30) | <input type="radio"/> 63 (46) |
| <input type="radio"/> 32 (15) | <input type="radio"/> 48 (31) | <input type="radio"/> 64 (47) |
| <input type="radio"/> 33 (16) | <input type="radio"/> 49 (32) | <input type="radio"/> 65 (48) |
| <input type="radio"/> 34 (17) | <input type="radio"/> 50 (33) | <input type="radio"/> mais de 65 (49) |
| <input type="radio"/> 35 (18) | <input type="radio"/> 51 (34) | |
| <input type="radio"/> 36 (19) | <input type="radio"/> 52 (35) | |
| <input type="radio"/> 37 (20) | <input type="radio"/> 53 (36) | |
| <input type="radio"/> 38 (21) | <input type="radio"/> 54 (37) | |
| <input type="radio"/> 39 (22) | <input type="radio"/> 55 (38) | |
| <input type="radio"/> 40 (23) | <input type="radio"/> 56 (39) | |
| <input type="radio"/> 41 (24) | <input type="radio"/> 57 (40) | |
| <input type="radio"/> 42 (25) | <input type="radio"/> 58 (41) | |
| <input type="radio"/> 43 (26) | <input type="radio"/> 59 (42) | |
| <input type="radio"/> 44 (27) | <input type="radio"/> 60 (43) | |
| <input type="radio"/> 45 (28) | <input type="radio"/> 61 (44) | |

Q5 Nacionalidade

- Portuguesa (1)
- Outra (2) _____

Q6 País de residência

- Portugal (1)
- Outro (2) _____

Q7 Escolaridade

- 1º Ciclo do Ensino Básico (4ºano) (1)
- 2º Ciclo do Ensino Básico (6º ano) (2)
- 3º Ciclo do Ensino Básico (9º ano) (3)
- 11º ou 12º ano (4)
- Bacharelato (5)
- Licenciatura ou Mestrado (6)
- Doutoramento (7)

Q8 É um consumidor habitual deste tipo de produtos (infusões de ervas aromáticas tais como: camomila, cidreira, alfazema, hortelã, entre outros..)

Q19 Na sua opinião o aroma da amostra 481 é:

	Muito mau (1)	(2)	(3)	Nem bom nem mau (4)	(5)	(6)	Muito bom (7)
aroma (1)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Q20 Na sua opinião o sabor da amostra 481 é:

	Muito mau (1)	(2)	(3)	Nem bom nem mau (4)	(5)	(6)	Muito bom (7)
sabor (1)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Q21 Em relação à amostra 481, indique o que gostou mais da amostra

Q22 Em relação à amostra 481, indique o que gostou menos da amostra

Q23 Qual das amostras prefere

- 730 (1)
- 481 (2)

Q24 Compraria a sua amostra preferida?

- Sim (1)
- É quase certo (2)
- Muito provavelmente (3)
- Provavelmente (4)
- Boa possibilidade (5)
- Possibilidade média (6)
- Possibilidade razoável (7)
- Alguma possibilidade (8)
- Possibilidade ligeira (9)
- Possibilidade muito ligeira (10)
- Não (11)

Q25 Quando consumiria a sua infusão preferida: (resposta múltipla)

- Todo o ano (1)
- No natal (2)
- No verão (3)
- Em dias frios (4)
- Outro (5) _____

nerol	21,359	2,039E+06	1,837E-01	2,570	21,331	1,029E+06	1,65E-01	0,748
geraniol	22,791	1,185E+07	1,068E+00	14,933	22,72	6,378E+06	1,03E+00	4,634
cinamaldeido	26,613	2,351E+06	2,118E-01	2,963	26,609	5,250E+04	8,44E-03	0,038
Metilo de cinamato	27,562	2,191E+04	1,974E-03	0,028	27,608	7,696E+05	1,24E-01	0,559
eugenol	29.873	1,920E+06	1,730E-01	2,420	29.885	3,250E+06	5,23E-01	2,361
Soma		7,935E+07		54,392		1,376E+08		48,910

Nota 1. Nos compostos que contêm * foi extraído o ião 69. Isto permitiu ver um espectro mais limpo.

Nota 2. Os compostos que se encontram a negrito foram identificados através da comparação com os seus respectivos padrões e tempos de saída.

Os restantes compostos foi através de aproximação do espectro de massa obtido com o espectro de massa da base de dados NIST.

Nota 3. A soma referente à coluna das áreas refere-se à área total da cromatografia de cada amostra.

Tabela 10.2. - Identificação dos compostos, respectivas áreas e áreas normalizadas das misturas com a “temática” Frescura

	9TF1				TF2			
	Tempo de retenção (min)	Área	Área Normalizada	% Área	Tempo de retenção (min)	Área	Área Normalizada	% Área
canfeno	2,387	3,015E+04	4,187E-03	0,025	2,384	2,971E+04	3,998E-03	0,051
β -pineno	2,836	1,007E+05	1,398E-02	0,085	2,850	1,920E+05	2,584E-02	0,331
sabineno	3,053	7,939E+04	1,103E-02	0,067	3,050	8,679E+04	1,168E-02	0,150
Não identificado	3,801	7,763E+05	1,078E-01	0,655	3,796	4,269E+05	5,746E-02	0,736
Não identificado	3,932	2,833E+05	3,934E-02	0,239	3,929	1,170E+05	1,575E-02	0,202
D- limoneno	4,260	9,075E+05	1,260E-01	0,766	4,274	1,650E+06	2,221E-01	2,843
eucaliptol	4,690	1,100E+07	1,528E+00	9,289	4,672	9,510E+06	1,280E+00	16,385
Não identificado	5,105	1,786E+05	2,481E-02	0,151	5,109	2,049E+05	2,758E-02	0,353
Não identificado	5,155	4,072E+05	5,656E-02	0,344	5,175	2,408E+05	3,240E-02	0,415
β -ocimeno	5,405	2,255E+05	3,132E-02	0,190	5,458	4,596E+04	6,186E-03	0,079
6-Methyl-5-heptene-2-one	8,098	3,290E+05	4,569E-02	0,278	8,142	1,686E+05	2,269E-02	0,290
α-Tujona	9,763	1,094E+05	1,519E-02	0,092	9,916	1,393E+05	1,875E-02	0,240
Padrão Interno 3-octanol	10,320	7,200E+06	1,000E+00	6,080	10,316	7,430E+06	1,000E+00	12,801
Linalol oxide	11,235	6,259E+05	8,693E-02	0,529	11,231	3,127E+05	4,209E-02	0,539
(-)-Isopulegol	12,200	9,568E+06	1,329E+00	8,080	12,250	6,910E+06	9,300E-01	11,905
canfora	12,666	1,657E+06	2,301E-01	1,399	12,726	3,077E+05	4,142E-02	0,530
Linalol/ acetato de linalilo	14,880	5,550E+07	7,708E+00	46,866	14,562	3,340E+06	4,495E-01	5,754
Terpinen-4-ol	15,750	2,950E+06	4,097E-01	2,491	15,773	1,205E+05	1,622E-02	0,208
estragol/(\pm)-cis-Verbenol*	17,797	1,178E+05	1,636E-02	0,099	17,753	9,613E+04	1,294E-02	0,166
D-carvona	18,960	3,690E+06	5,125E-01	3,116	18,971	6,140E+06	8,264E-01	10,579
D-carvona	19,050	1,950E+06	2,708E-01	1,647	19,046	2,000E+06	2,692E-01	3,446
citral*	19,376	3,094E+05	4,297E-02	0,261	19,347	2,399E+05	3,229E-02	0,413
neodihidrocarveol	19,890	2,290E+06	3,181E-01	1,934	19,885	3,370E+06	4,536E-01	5,806

nerol	21,303	2,363E+05	3,282E-02	0,200	21,291	5,318E+04	7,158E-03	0,092
geraniol	22,595	3,563E+05	4,949E-02	0,301	22,589	1,843E+05	2,481E-02	0,318
cinamaldeido	-	-	-	-	-	-	-	-
Metilo de cinamato	-	-	-	-	-	-	-	-
eugenol	-	-	-	-	-	-	-	-
Soma		1,184E+08		85,185		5,804E+07		74,630

Nota 1. Nos compostos que contêm * foi extraído o íão 69. Isto permitiu ver um espectro mais limpo.

Nota 2. Os compostos que se encontram a negrito foram identificados através da comparação com os seus respectivos padrões e tempos de saída.

Os restantes compostos foi através de aproximação do espectro de massa obtido com o espectro de massa da base de dados NIST.

Nota 3. A soma referente à coluna das áreas refere-se à área total da cromatografia de cada amostra.

11. Bibliografia

- ASA. (2014). ASA Ruling on Unilever UK Ltd Retrieved maio de 2016, 2016, from https://www.asa.org.uk/Rulings/Adjudications/2014/7/Unilever-UK-Ltd/SHP_ADJ_256939.aspx#.VlnQKXbhDIU
- Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G., & Martin, P. T. (2001). Factors Affecting the Caffeine and Polyphenol Contents of Black and Green Tea Infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5340-5347. doi: 10.1021/jf010759+
- Ayanoglu F., Arslan, M., & Hatay A. (2005). Effects of Harvesting Stages, Harvesting Hours and Drying Methods on Essential Oil Content of Lemon Balm Grown in Eastern Mediterranean. *International Journal of Botany*, 1(2).
- Baritoux, O., Richard, H., Touche, J., & Derbesy, M. (1992). Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil. Part I. Basil, *ocimum basilicum* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 7(5).
- Bertoli, A., Çirak, C., & Silva, J. A. T. d. (2010). Hypericum Species as Sources of Valuable Essential Oil. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5(1).
- Brennan, M., & Esslemont, D. (1994). The accuracy of the Juster Scale for predicting purchase rates of branded, fast-moving consumer (Vol. 5, pp. 47).
- Caballero, B., Trugo, L., & Finglas, P. (2003). Herbs and Their Uses. In Edição (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Vol. 5): Academic Press.
- Câmara, J. S., Alves, M. A., & Marques, J. C. (2006). Development of headspace solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry methodology for analysis of terpenoids in Madeira wines. *Analytica Chimica Acta*, 555(2), 191-200. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.09.001>
- Carnat A., Carnat, A. P., Fraisse, D., & Lamaison, J. L. (1999). The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea (Vol. 70, pp. 44).
- CBI, Ministry. of. Foreing. Affairs. Which trends offer opportunities on the European tea market? , 2015, from <https://www.cbi.eu/market-information/tea/trends>
- Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A., Rouabhia, M., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research*, 21(6).
- Charles, D. J., Simon, J. E., & Widrlechner, M. P. (1991). Characterization of Essential Oil of *Agastache* Species *Agricultural and Food Chemistry*, 39.
- Chauhan, R. S., Kaul, M. K., Shahi, A. K., Kumar, A., Ram, G., & Tawa, A. (2009). Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIM(J)26] from North-West Himalayan region, India. *Industrial Crops and Products*, 29(2–3), 654-656. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.12.003>
- Corwin, A., Zahorik, L., & Hurlbutt, M. (2009). Herbal Supplements: Healthcare Implications and Considerations. *CDHA Journal*, 24(2).
- Cunha, A. P. d., Silva, A. P. d., & Roque, O. R. (2006). *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Cunha, A. P. d., Teixeira, F., Silva, A. P. d., & Roque, O. R. (2007). *Plantas na Terapêutica, Farmacologia e Ensaio Clínicos*: Fundação Calouste Gulbenkian.
- De-Heer, N. (2011). *Formulation and sensory evaluation of herb tea from Moringa Oleifera, Hibiscus Sabdariffa and Cymbopogon Citratus*. Kwame Nkrumah University of Science and Technology.
- Ecocert. (2016). Agricultura Biológica Retrieved maio de 2016, 2016, from <http://www.ecocert.pt/>

- Esharif, S., Banerjee, A., & Buettner, A. (2015). Structure-odor relationships of linalool, linalyl acetate and their corresponding oxygenated derivatives. *Frontiers in Chemistry*, 3.
- Euromonitor. (2016). Tea in Portugal - Trends Retrieved maio de 2016, 2016, from <http://www.euromonitor.com/tea-in-portugal/report>
- European Committee on Herbal Medicinal Products. (2010). Glossary on herbal teas 2015, from http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2010/04/WC500089943.pdf
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Pedro, L. G. (2007). *Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais - Curso Teórico-Prático* (3ª ed.): Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa - Centro de Biotecnologia Vegetal.
- Filho, J. L. S. C., Blank, A., F., Alves, P., B., Ehlert P. A.D., Melo A. S., Cavalcanti S. C.H., Arrigoni-Blank, M., F., & Silva-Mann, R. (2006). Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil / Influência do horário de colheita, temperatura e tempo de secagem no óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) (Vol. 16, pp. 24).
- Forrest, G.I., Bendall, D.S., (1968). The Distribution of Polyphenols in the Tea Plant (*Camellia sinensis* L.). *Biochemistry Journal*(5).
- Gende, L. B., Floris, I., Fritz, R., & Eguaras, M. J. (2008). Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus* larvae from Argentine *Bulletin of Insectology*, 61(1).
- German Tea Association, & German Herbal Tea Association. (1989). Guidelines for Tea, Herbal Infusions, Extracts Thereof and Preparations. *Directives for tea, herbal tea, extracts there of and preparations*, 2015, from http://www.wkf.de/fileadmin/wkf_redaktion/Recht/Leitsaetze_fuer_Tee-Neufassung_9.4.99-englische_Uebersetzung.pdf
- GLOBALG.A.P. (2016). Cultivating the Future of the Planet Retrieved maio de 2016, 2016, from [http://www.globalgap.org/uk_en/what-we-do/globalg.a.p.-certification/globalg.a.p./](http://www.globalgap.org/uk_en/what-we-do/globalg.a.p.-certification/globalg.a.p/)
- Grower'sCup. The teabrewer Retrieved maio de 2016, 2016, from <https://growerscup.coffee/en/the-teabrewer>
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Brouke, P. (2008). Chemistry and Technology of Flavours and Fragrances. *International journal of food microbiology*, 124.
- Horváth, G., Szabó, L. G., Héthelyi, É., & Lemberkovics, É. (2006). Essential Oil Composition of Three Cultivated *Thymus* Chemotypes from Hungary. *Essential Oil Research* 18.
- Infante, R., Rubio, P., Contador, L., & Moreno, V. (2010). Effect of drying process on lemon verbena (*Lippia citrodora* Kunth) aroma and infusion sensory quality. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(1), 75-80. doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02105.x
- Jeehyun, L., & Chambers, D. H. (2007). A Lexicon for flavor descriptive analysis of green tea (Vol. 22).
- Jiang, Y., Zhao, N., Wang, F., & Chen, F. (2011). Emission and Regulation of Volatile Chemicals from Globe Amaranth Flowers. *American Society for Horticultural Science*, 136(1).
- Jirapakkul, W., Tinchana, P., & Chaiseri, S. (2013). Effect of drying temperature on key odourants in kaffir lime (*Citrus hystrix* D.C., Rutaceae) leaves (Vol. 48).
- Khalid, K. A. (2006) Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). *Vol. 0*.

- Lasekan, O., & Lasekan, A. (2012). Flavour chemistry of mate and some common herbal teas. *Trends in Food Science & Technology*, 27(1), 37-46. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.05.004>
- Lawrence, B. M., Hogg, J. W., & Terhune, S. J. (1971). Constituents of the leaf and peel oils of *Citrus hystrix*, D.C. *Phytochemistry* 10.
- Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., & Lee, K.-G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91(1), 131-137. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>
- Lipton. Cold Brew Tea Bags Retrieved maio de 2016, 2016 from <http://www.lipton.com/product/detail/141451/decaf-cold-brew>
- Ma, Q. L., Hamida, N., Bekhit, A. E. D., Robertson, J., & Law, T. F. (2013). Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compounds in cooked beef using response surface methodology. *Microchemical Journal*, 111, 16-24. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.007>
- Mars, B. (2006). *Healing Herbal Teas - A Complete Guide to Making Delicious, Healthful Beverages*: Basic Health.
- Marsili, R. (2006). *Sensory-Directed Flavour Analysis*: CRC Press.
- Mayo Clinic, University of California Los Angeles, & Dole. Food. Company., Inc. (2002). *Beverages Encyclopedia of Foods, A guide to Healthy Nutrition*: Academic Press, Elsevier.
- McDonald, H., & Alpert, F. (2001). Using the Juster Scale to Predict Adoption of an Innovative Product.
- Meilgaard, M. C., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory Evaluation Techniques* (Fourth ed.): CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Moskowitz, H. R., Beckley, J. H., & Resurreccion, A. V. A. (2006). *Sensory and Consumer Research in Food Product Design and Development* (First ed.): Blackwell Publishing Ltd.
- Müller-Riebau, F. J., Berger, B. M., Yegen, O., & Cakir, C. (1997). Seasonal Variations in the Chemical Compositions of Essential Oils of Selected Aromatic Plants Growing Wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12), 4821-4825. doi: 10.1021/jf970110y
- Muller, J., & Heindl, A. (2006). Drying of Medicinal Plants In R. J. C. Bogers, L E Craker & D. Lange (Ed.), *Medicinal and aromatic plants* (pp. 237-252): Springer.
- Newswire, PR. (2014). Tea: The Future is Green and Herbal - Global Markets, Competitors and Opportunities - 2013-2018 Analysis and Forecasts Retrieved maio de 2016, 2016, from <http://www.prnewswire.com/news-releases/tea-the-future-is-green-and-herbal---global-markets-competitors-and-opportunities---2013-2018-analysis-and-forecasts-240079191.html>
- Numi. from <http://www.numitea.com/savorytea>
- Omidbaigi, R., Sefidkon, F., & Hejazi, M. (2005). Essential oil composition of *Thymus*citriodorus* L. cultivated in Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20.
- Özcan, M., Arslan, D., & Ünver, A. (2005). Effect of drying methods on the mineral content of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Food Engineering*, 69(3), 375-379. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.030>
- PGTips. History of PGTips Retrieved maio de 2016, 2016, from <http://www.pgtips.co.uk/article/detail/290609/history-of-pg-tips>

- Pharmacopée Française. (2013). Tisanes, 2015, from http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/b2d8f15c05ce3d8677454e429d9275cb.pdf
- Porto, C. D., Decorti, D., & Kikic, I. (2009). Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*, 112(4), 1072-1078. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.015>
- PortugalFoods. (2015). NonAlcoholicDrinks - Tea, Malt and Other Hot Drinks - Overview 2015 Report.
- Ranasinghe, L., Jayawardena, B., & Abeywickrama, K. (2002). Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology*, 35(3).
- Rowe, D. (2004). *Chemistry and Technology of Flavours and Fragrances*: David Rowe.
- Sabores Santa Clara. Retrieved maio de 2016, 2016, from <http://www.saboressantaclara.com/loja/produto.php?produto=10>
- Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T., & Rehder, V. L. G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(4).
- Savan, E. K., & Kuçukbay, F. Z. (2013). Essential Oil Composition of *Elettaria cardamomum* Maton. *Journal of Applied Biological Sciences*, 7(3).
- Schaechter, M. (2009). *Encyclopedia of Microbiology* (3rd ed.).
- Schapira, J., Schapira, D., & Schapira, K. (1996). *The Book of Coffee and Tea: A Guide To The Appreciation Of Fine Coffees, Teas, And Herbal Beverages*. St. Martin's Griffin.
- Singh, G., Kiran, S., Marimuthu, P., Isidorov, V., & Vinogorova, V. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and various oleoresins of *Elettaria cardamomum* (seeds and pods)†. *Science of Food and Agriculture*, 88.
- Snoussi, M., Noumi, E., Trabelsi, N., Flamini, G., Papetti, A., & Feo, V. D. (2015). *Mentha spicata* Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of *Vibrio* spp. Strains. *Molecules*, 20(8).
- Stone, H., Bleibaum, R. N., & Thomas, H. A. (2012). Chapter 1 - Introduction to Sensory Evaluation *Sensory Evaluation Practices (Fourth Edition)* (pp. 1-21). San Diego: Academic Press.
- Tetley. Tetley Cold, from <http://www.tetley.pt/our-teas/products?id=104&priority=2>
- Tilburt, J. C., & Kaptchuk, T. J. Herbal medicine research and global health: an ethical analysis Retrieved maio de 2016, 2016, from <http://www.who.int/bulletin/volumes/86/8/07-042820/en/>
- Tisserand, R., & Young, R. (2014). *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals* (Second ed.): Churchill Livingstone, Elsevier.
- Tomescu, A., Rus, C., Pop, G., Alexa, E., Sumălan, R., Copolovici, D., & Negrea, M. (2015). Chemical Composition of *Lavandula angustifolia* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils Cultivated in West Romania. *Research Journal of Agricultural Science*, 47(3).
- Valduga, E., Valerio, A., Treichel, H., Filho, I. N., Júnior, A. F., & Luccio, M. D. (2010). Head Space Solid Phase Micro-Extraction (HS - SPME) of volatile organic compounds produced by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636). *Food Science and Technology (Campinas)*, 30(4).

- Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, H. (2012). Quick and dirty but still pretty good: a review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(8), 1563-1578. doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03022.x
- Varela, P., & Ares, G. (2012). Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*, 48(2), 893-908. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.037>
- Vas, G., & Vékey, K. (2004). Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal Of Mass Spectrometry*, 39(3).
- Vidović, S., Cvetkovic, D., Ramić, M., Dunjić, M., Malbaša, R., Tepić, A., Šumića, Z., Velićanskia A., & Jokić, S. (2013). Screening of changes in content of health benefit compounds, antioxidant activity and microbiological status of medicinal plants during the production of herbal filter tea. *Industrial Crops and Products*, 50, 338-345. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.005>
- Waikedre, J., Dugay, A., Barrachina, I., Herrenknecht, C., Cabalion, P., & Fournet, A. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from New Caledonian Citrus macroptera and Citrus hystrix. *Chemistry & Biodiversity*, 7.
- Welton, A. J. (2009). *Advancing Potable Water Infrastructure Through an Improved Understanding of Polymer Pipe Oxidation, Polymer-Contaminant Interactions, and Consumer Perception of Taste*. Doctor Virginia Polytechnic Institute. Retrieved from <http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-04162009-113815/unrestricted/FINALWheltonDissertationMay09.pdf>
- Wesolowska, A., Kosecka, D., & Jadcak, D. (2012). Essential oil composition of three sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Herba Polonica Journal*, 58(2).
- Xia, T., Shi, S., & Wan, X. (2006). Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. *Journal of Food Engineering*, 74(4), 557-560. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.043>
- Xiao, Z., Zhou, X., Niu, Y., Yu, D., Zhu, J., & Zhu, G. (2015). Optimization and application of headspace-solid-phase micro-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of volatile compounds in cherry wines (Vol. 978-979).
- Yokomi, N., & Ito, M. (2009). Influence of composition upon the variety of tastes in Cinnamomi Cortex. *Journal of natural medicines*, 63(3).
- Zhao, J., Deng, J. W., Chen, Y. W., & Li, S. P. (2013). Advanced phytochemical analysis of herbal tea in China. *Journal of Chromatography A*, 1313, 2-23. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.039>
- Zielińska, S., & Matkowski, A. (2014). Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus *Agastache* (Lamiaceae). *Phytochemistry Reviews - Springer*, 13(2).