

JOEL CONCEIÇÃO COSTA

ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA (Ocimum gratissimum L.) COMO AROMATIZANTE EM BEBIDAS ALCOÓLICAS FORMULADAS

LAVRAS - MG 2016

JOEL CONCEIÇÃO COSTA

ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA (Ocimum gratissimum L.) COMO AROMATIZANTE EM BEBIDAS ALCOÓLICAS FORMULADAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromática e Condimentares, área de concentração em Plantas Medicinais, Aromática e Condimentares, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Luciane Vilela Resende Orientadora Prof. Dr. Wilson Magela Gonçalves Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci Coorientadores

> LAVRAS - MG 2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Costa, Joel Conceição.

Óleo essencial de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) como aromatizante em bebidas alcoólicas formuladas / Joel Conceição Costa. – Lavras: UFLA, 2016.

45 p.: il.

Dissertação (mestrado acadêmico)—Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Luciane Vilela Resende. Bibliografia.

1. Eugenol. 2. Bebida Aromatizada. 3. Cromatografia. 4. Aceitabilidade. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

JOEL CONCEIÇÃO COSTA

ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA (Ocimum gratissimum L.) COMO AROMATIZANTE EM BEBIDAS ALCOÓLICAS FORMULADAS

ESSENTIAL OIL OF BASIL (Ocimum gratissimum L.) as a flavoring in ALCOHOLIC BEVERAGES FORMULATED

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromática e Condimentares, área de concentração em Plantas Medicinais, Aromática e Condimentares, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 23 de agosto de 2016.

Dr. Wilson Magela Gonçalves UFLA Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves UFLA Dra. Josane Maria Resende Saggin UFRRJ

> Profa. Dra. Luciane Vilela Resende Orientadora

> > LAVRAS – MG 2016

À minha família e amigos **OFEREÇO.**

Em memória de minha irmã "Ana"

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, que é meu suporte emocional.

Aos velhos amigos e aos novos, por emoldurar a minha vida.

À minha mãe que sempre foi o farol da minha existência.

Aos meus filhos, presente Divino que me enche de alegria.

Aos meus netos, fonte de alegria.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, em especial, ao Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromática e Condimentares.

Ao professor e coorientador, Dr. Wilson Magela Gonçalves, pela orientação e amizade.

Aos técnicos do horto de plantas medicinais: Paulinho, Dico, Julia, que se tornaram amigos. À professora e orientadora, Dra. Luciane Vilela Resende, pela orientação e amizade.

Aos técnicos da horticultura, Stefany, Luís e Josemar, que jamais serão esquecidos.

À amiga Anete, técnica do Laboratório de Fitoquímica.

Às minhas colegas, Carlinha, Fatinha, Lívia, Janine, Krisnanda, Mariana e Simony.

À minha companheira, amiga e parceira, Michelle, pela ajuda, suporte técnico e emocional.

Obrigado!

RESUMO

O Ocimum gratissimum L. que é uma planta rica em óleos essenciais cujos constituintes majoritários são o timol e o eugenol, com propriedades antioxidantes, tem sido utilizado para fins medicinais, aromatizantes, temperos, perfumes, entre outros. Os óleos essenciais como aromatizantes vêm sendo utilizados pela indústria alimentícia substituindo, com qualidade, os aromatizantes sintéticos e artificiais. Além da padronização próxima do ideal, ter-se-ia, ainda, um produto final, com maior salubridade, em sua obtenção, no caso, uma bebida. Essa padronização é valorizada pelo consumidor, pois, ao adquirir a bebida, tem-se a expectativa de encontrar as mesmas caraterísticas de sabor e aroma. Objetivou-se, com este trabalho, avaliar, sensorialmente, diferentes concentrações de óleo essencial de Ocimum gratissimum L. na flavorização de uma bebida alcoólica. O óleo essencial foi obtido por extração de folhas frescas de plantas, cultivadas em canteiros, no Horto de Plantas Medicinal do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA). Foram feitas quatro colheitas, sendo a primeira com 120 dias após o plantio das mudas e mais três a cada 120 dias. Para obtenção da bebida formulada, foram adicionados 2% de acúcar cristal na forma de xarope, água mineral, para reduzir o teor alcoólico para 30° GL e, em seguida, adicionado o óleo essencial de O. gratissimum em quatro concentrações diferentes 200, 300, 400 e 500 μL para 1000 mL de cachaça. Em seguida, a análise sensorial, um teste afetivo por preferência e aceitabilidade das bebidas (teste de aceitação utilizando escala hedônica). Houve aceitação em todas as concentrações testadas. Pelo índice de aceitação a melhor aromatização se deu com a concentração de 300 µL L-1. Com relação à saborização, apenas as concentrações de 200 µL L⁻¹ e 300 µL L⁻¹ alcançaram índice de aceitação (acima de 70%), considerado o limite aceitável.

Palavras-chave: Eugenol. Bebida Aromatizada. Cromatografia. Aceitabilidade.

ABSTRACT

The Ocimum gratissimum L. is a plant rich in essential oils whose main constituents are thymol and eugenol and due to their antioxidant properties they have been used for medicinal purposes, and also as flavorants, spice, fragrances, among others. Essential oils have been used by the food industry successfully replacing the synthetic and artificial flavorants. Besides standardization close to ideal, it is also possible to have a final product with greater value in terms of salubrity in its production, i.e. a drink. This standardization is valued by the consumer because when buying the drink there is the expectation to find the same characteristics of flavor and aroma such as the natural. The objective of this study was to perform a sensory analysis in order to evaluate different concentrations of essential oil of Ocimum gratissimum L. as flavoring of an alcoholic beverage. The essential oil was obtained by extraction of fresh leaves of plants grown in the Garden of Medicinal Plants at the Department of Agriculture of the University of Lavras (DAG/UFLA), four harvests were made, the first 120 days after planting the seedlings and three more every 120 days. To obtain the drink it was added 2% crystallized sugar as syrup, mineral water to reduce the alcohol content to 30° GL and then added the essential oil of O. gratissimum in four different concentrations: 200, 300, 400 and 500 µL to 1000 mL of cachaça. Following the sensory analysis it was held an affective test by preference and acceptability of the drinks (acceptance test using hedonic scale). All concentrations tested were accepted. According to the acceptance index, the best aromatization occurred with the concentration of 300 µL L⁻¹. Regarding flavor only the concentrations of 200 µL L⁻¹ and 300 µL L⁻¹ achieved the acceptance rate (over 70%), considering the acceptable limit.

Keywords: Eugenol. Aromatized drink. Chromatography. Acceptability.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Estrutura espacial do eugenol
Figura 2 - Obtenção de mudas de <i>Ocimum gratissimum</i> . (A) Planta adulta, (B)
Estacas e (C) Mudas23
Figura 3 - Escala hedônica de nove pontos
Figura 4 – Teor de óleo e concentração de eugenol de <i>Ocimum gratissimum</i> 34

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Variáveis meteorológicas registradas no período do experimento na
UFLA/Lavras - MG, 2015/2016. Precipitação acumulada e médias
de temperatura, umidade relativa e insolação25
Tabela 2 - Períodos de extração de óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> 26
Tabela 3 - Rendimento de óleo essencial de Ocimum gratissimum de acordo
com a referência literária
Tabela 4 - Caracterização química do óleo essencial de Ocimum gratissimum. 33
Tabela 5 - Valores médios de aceitação para aroma e sabor da bebida formulada
com óleo essencial de Ocimum gratissimum para cada concentração
de óleo
Tabela 6 - Índice de aceitabilidade da bebida aromatizada com diferentes
concentrações de óleo essencial de Ocimum gratissimum36
Tabela 7 - Valores médio, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de
variação da aceitação das bebidas com diferentes concentrações de
Ocimum gratissimum para as características aroma e sabor da
bebida formulada37

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1.	A utilização de plantas com finalidades medicinais e aromáticas	14
2.2.	Ocimum gratissimum: caracterização e uso do óleo essencial	17
3.	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1.	Material vegetal	23
3.1.1.	Produção de mudas e cultivo	23
3.1.2.	Identificação do material vegetal	24
3.1.3.	Variáveis climáticas	24
3.1.4.	Colheita do material vegetal	25
3.2.	Obtenção do óleo essencial	25
3.2.1.	Caracterização química	26
3.3.	Obtenção da bebida formulada	27
3.4.	Análise sensorial	28
3.5.	Índice de aceitação	30
3.6.	Análise estatística	30
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1.	Óleo essencial	32
4.2.	Bebida formulada	35
5.	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIA	39

1. INTRODUÇÃO

O Ocimum gratissimum L. é uma planta rica em óleos essenciais cujos constituintes majoritários são o timol e o eugenol, com propriedades antioxidantes semelhantes aos taninos flobabênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leucoantocionidinas, catequinas, alcaloides e terpenos. Óleos essenciais têm sido utilizados para fins medicinais e, como aromatizantes, temperos, perfumes, entre outros.

Na medicina popular, partes da planta (folhas principalmente) de *O. gratissimum* são utilizadas, para combater doenças como diarreia (antidiurético), cefaleia, problemas respiratórios e febre tifoide, cujos efeitos mais comuns incluem os sudoríficos, diurético e carminativo, principalmente, quando consumida na forma de chá. O óleo essencial tem atividades contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* que são consideradas resistentes a vários antibióticos, dentre eles, amoxilina, cefalotina, ciprofloxacin, tetraciclina, neomicina e butirosina.

Óleos essenciais são, frequentemente, usados como aromatizante, porém seu uso em bebidas, ainda, é incipiente. As bebidas, normalmente, são aromatizadas por extratos de plantas e/ou sementes, obtidos por maceração. Mundialmente, têm-se algumas bebidas a exemplo do OUZO (bebida Grega), definido como um produto de destilação de uma mistura, que consiste de maceração de anis (*Illicium verum*) e outras sementes em etanol, que posteriormente, é redestilado, tradição que garante qualidade e padronização. A padronização é valorizada pelo consumidor, pois, ao adquirir a bebida, ele tem a expectativa de encontrar as mesmas caraterísticas de sabor e aroma.

Outro exemplo de bebida tradicional é a aguardente de ZIMBRO (*Juniperus communis*), uma bebida alcoólica portuguesa tradicional, produzida na zona da Serra da Estrela, usando a maceração de bagas de zimbro em

destilados, com ou sem outra substância vegetal aromática. Tem-se, também, a aquavit ou akuavit, bebida obtida pela destilação ou redestilação de álcool etílico aromatizado com sementes de alcarávia (*Carum carvi*).

No entanto a padronização pelo método da maceração tem suas dificuldades, causadas pela não uniformidade das características do vegetal utilizado, pois o teor e a composição química são determinados por caracteres genéticos e alguns fatores, que podem acarretar alterações significativas, na produção dos metabólitos secundários, como a idade e o estádio de desenvolvimento das plantas, além de fatores climáticos, ambientais e manejo de condução da planta. Entre todos os lotes produzidos, exige-se uma habilidade do preparador, para garantir a padronização das características tradicionais destas bebidas.

O desafio é conseguir uma boa qualidade da bebida, com características naturais, com possibilidades de padronização efetuando a caracterização. A substituição de macerados por óleos essenciais atenderia a estes dois requisitos efetuando-se a caracterização via análise cromatográfica. Ootani et al. (2013) afirmam que os óleos essenciais são considerados fontes naturais, para o desenvolvimento de novo produto, possibilitando uma padronização próxima do ideal. Estes óleos como aromatizantes vêm sendo utilizados pelas indústrias alimentícias, na substituição, com qualidade, dos aromatizantes sintéticos e artificiais.

Em pesquisa junto às bases de periódicos (Scopus e Web of Science), verificou-se a existência de artigos científicos (4168), analisando propriedades e usos, dentre outras abordagens, do óleo essencial de gênero Ocimum. Muitos destes artigos mencionam a sua utilização, para diversas finalidades, inclusive, a possibilidade de uso na aromatização de bebidas. No entanto não se encontrou nenhum artigo, especificamente, analisando o uso óleo essencial para aromatizar bebidas e/ou avaliando o sabor.

Desta forma, objetivou-se, com este trabalho, avaliar o potencial flavorizante de diferentes concentrações de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. na aromatização e saborização de uma bebida alcoólica.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A utilização de plantas com finalidades medicinais e aromáticas

Plantas medicinais são assim denominadas por conter princípios ativos com propriedade de provocar reações benéficas no organismo, capazes de resultar na recuperação da saúde (LORENZI; MATOS, 2008).

A humanidade carrega uma série de informações sobre o ambiente onde vive, o que permite o suprimento de grande parte das suas necessidades. O uso de plantas para se alimentar e curar remonta à origem do homem. Argenta et al. (2011) apontavam que as plantas medicinais eram o único recurso terapêutico para uma significativa parcela da população brasileira e para mais de 2/3 da população do planeta. Dados, ainda, corroborados por Brasil (2016), que aponta um percentual de 85% em nível mundial.

A OMS define planta medicinal como sendo "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002). Plantas medicinais não se diferenciam de qualquer outro xenobiótico sintético, e a preconização ou a autorização oficial do seu uso medicamentoso deve ser fundamentada em evidências experimentais comprobatórias de que o risco a que se expõem aqueles que a utilizam é suplantado pelos benefícios que possam advir (BRASIL, 1995).

As plantas medicinais, hoje, representam nova alternativa para a conservação dos ecossistemas, visto que as espécies vegetais de valor medicinal são recursos florestais passíveis de exploração sustentável e de comercialização (DI STASI; HIRUMA, 2002).

As plantas aromáticas e seus óleos essenciais têm sido utilizados para atrair outros indivíduos da natureza e, desde o início da história da humanidade,

para saborizar comidas e bebidas, além de, empiricamente, serem utilizadas como conservantes e para cobrir os odores desagradáveis ou para controlar problemas sanitários. Desta forma, contribui para a comunicação entre indivíduos, influencia o bem-estar dos seres humanos e animais em uma mostrar de longa tradição sociocultural e socioeconômico (FRANZ, 2010).

As plantas são uma fonte inesgotável de produtos naturais, muitos deles metabolitos secundários, que o Homem, utiliza nas mais diversas indústrias, nomeadamente, nas indústrias alimentar, cosmética e perfumaria. No grupo de compostos do metabolismo secundário, incluem-se diversas substâncias, farmacologicamente, ativas, regularmente, empregadas como fármacos (FIGUEIREDO; BARROSO; PEDRO, 2006).

Um dos interesses comerciais das plantas aromáticas está, principalmente, nos óleos essenciais, os quais constituem um dos mais importantes grupos de matérias-primas para as indústrias alimentícia, farmacêutica, de perfumaria e afins (MORAIS, 2009).

Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida, atualmente, um sentimento geral de decepção com a medicina convencional e o desejo de adotar um estilo de vida "natural" têm levado à utilização crescente de outras formas de terapia, principalmente, em países desenvolvidos. Dentro deste contexto, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reiterou o compromisso em estimular o uso da medicina tradicional e medicina complementar, porém as exigências na construção de um conhecimento, cientificamente, aceito sobre plantas medicinais, tanto no contexto de descobertas e validação quanto no contexto de aplicação, têm entrado, às vezes, em conflito com o saber popular (ARGENTA et al., 2011).

A utilização de plantas aromáticas, possuidoras de óleos essenciais, geralmente, com ações flavorizantes, com comprovada ação antibacteriana e antioxidante, pode ser uma alternativa interessante, para a conservação de

alimentos, diminuindo a concentração de aditivos sintéticos nesses produtos (SILVESTRI et al., 2010).

A oportunidade para a identificação de produtos com possível utilização econômica aumenta com a diversidade de espécies. As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de grande número de fármacos. Alcaloides vegetais, por exemplo, têm se mostrado, especialmente, efetivos em seus efeitos medicinais e encontram-se distribuídos por diversas espécies vegetais tropicais (SIMÕES; SCHENKEL; GOSMAN, 2003).

Segundo Blank et al. (2005), antes de iniciar-se o cultivo em escala comercial, torna-se necessário conhecer o comportamento da espécie com relação aos efeitos climáticos da região de plantio, os tratos culturais e os fatores bióticos que são responsáveis pelo desenvolvimento da planta. A falta de domínio tecnológico de todas as etapas de desenvolvimento levará, provavelmente, à baixa qualidade da biomassa e de teores dos principais constituintes químicos do óleo essencial e de rendimentos.

O Brasil, em 2005, por meio SUS, propõe a inclusão das plantas medicinais e fitoterapia como opções terapêuticas, no sistema público de saúde, contanto que esses produtos à base de plantas atendam à legislação vigente (BRASIL, 2006a).

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2006b), o Brasil é o país que detém a maior parcela da biodiversidade, em torno de 15 a 20% do total mundial, com destaque para as plantas superiores, as quais detêm, aproximadamente, 24% da biodiversidade. Entre os elementos que compõem a biodiversidade, as plantas são a matéria-prima para a fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos. Além de seu uso como substrato, para a fabricação de medicamentos, as plantas são, também, utilizadas em práticas populares e

tradicionais como remédios caseiros e comunitários, processo conhecido como medicina tradicional.

2.2. Ocimum gratissimum: caracterização e uso do óleo essencial

Lamiaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas. Espécies desta família são caracterizadas pela presença de tricomas glandulares (NAVARRO; EL OUALIDI, 1999). Existem vários estudos que falam sobre a quantidade de gêneros e espécies dessa família, mas, atualmente, o banco de dados do Kew Royal Botanic Gardens possui um registro de 732 gêneros e 7534 espécies dentro dessa família. Lorenzi e Matos (2008) apontam que 25 espécies dessa família são plantas medicinais nativas e exóticas no Brasil.

O gênero Ocimum pertence à família Lamiaceae, possuindo 30 espécies de ervas que são encontradas em regiões tropicais e subtropicais. O *Ocimum gratissimum* L. possui aroma forte e agradável, popularmente, chamado de alfavacão, alfavaca e alfavaca-cravo com origem no oriente, subespontâneo em todo o Brasil. Várias espécies de Ocimum são plantas, classicamente, fornecedoras de óleos essenciais, largamente, utilizados como temperos de pratos especiais e aromatizantes de licores e de perfumes finos (LORENZI; MATOS, 2008).

O. gratissimum é um subarbusto aromático, ereto, com até um metro de altura, no qual existem alguns quimiotipos, inclusive, o designado como eugenolífero. Possui folhas ovalado-lanceoladas, de bordos duplamente dentados, membranáceas, de 4-8 cm de comprimento. Flores pequenas, roxopálidas, dispostas em racemos paniculados eretos e, geralmente, em grupos de três. Os frutos são do tipo cápsula, pequeno, possuindo quatro sementes esféricas. Nas práticas usuais da medicina caseira, as folhas da alfavaca-cravo

são usadas na preparação de banhos antigripais, no tratamento de casos de nervosismo e paralisia (LORENZI; MATOS, 2008).

Existem dois tipos importantes de *O. gratissimum*: um deles se distingue pelo alto teor de timol e o outro por conter alto teor de eugenol. É potencial fonte de antioxidantes naturais, sendo o eugenol identificado como principal componente do óleo essencial, a substância ativa responsável por essa ação (PEREIRA; MAIA, 2007). O eugenol, um fenilpropanóide, apresenta ação analgésica e antisséptica local contra alguns fungos e bactérias. Tem como uso comum na medicina popular para combater doenças como diarreia (antidiurético), cefaleia, problemas respiratórios e febre tifoide, cujos efeitos mais comuns incluem os sudoríficos, diurético e carminativo, principalmente, quando consumida na forma de chá (PASSOS; CARVALHO; WIEST, 2009).

Os resultados do trabalho de Matias et al. (2010) indicam que nas folhas de *O. gratissimum* estão presentes os taninos, flobabênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, alcaloides e terpenos que apresentaram atividade antibacteriana considerável. Na literatura, é possível encontrar estudos sobre o cultivo, colheita, composição química e propriedades farmacológicas e, alguns sobre estudo anatômico e histoquímico das folhas, porém não priorizam informações sobre a farmacobotânica da espécie. Foi constatada a capacidade de aclimatação de *O. gratissimum*, em diferentes níveis de radiação luminosa, por meio das modificações anatômicas, principalmente, na espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso (FERNANDES et al., 2014).

Os óleos essenciais (OE) são compostos voláteis produzidos pelas plantas para sua sobrevivência nas funções de autodefesa e de atração de polinizadores. Entre os compostos secundários estão os alcaloides, os flavonoides, as saponinas e os óleos essenciais. O conteúdo de óleo essencial pode variar, consideravelmente, de espécie para espécie, em função de

parâmetros climáticos e de fatores agronômicos como fertilização, irrigação, colheita e, especialmente, a fase de desenvolvimento da planta na época da colheita (LUZ et al., 2009).

A International Organization for Standardization – ISO (1997) define óleos essenciais como os produtos obtidos de partes de plantas, por meio de destilação por arraste de vapor d'água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (Rutaceae). Em geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente, odoríferas e líquidas.

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém outros fatores podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários. De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente (MORAIS, 2009).

A biossíntese dos óleos essenciais é influenciada por fatores climáticos como fotoperíodo, temperatura, umidade, precipitação e intensidade de radiação solar, que podem determinar a época ideal de colheita ou o local de cultivo, em que se poderá obter maior quantidade de óleo essencial e do princípio ativo desejado. O estádio de desenvolvimento da planta, também, interfere na produção de metabólitos secundários (TAVEIRA et al., 2003).

No passado, a maioria dos óleos essenciais, metabólitos secundários de plantas, era estudada apenas no aspecto do aroma e da química das fragrâncias. Atualmente, os óleos essenciais e seus constituintes têm ganhado maior destaque pela sua posição como produto natural, grande aceitação pelos consumidores, com potencial uso multifuncional e alternativa aos riscos potenciais dos aditivos sintéticos (MIRANDA et al., 2014).

Os óleos das plantas aromáticas têm um enorme potencial, para gerar novas opções de renda e emprego no campo, seja como uma nova atividade ou como uma complementar à atividade agrícola estabelecida. Para tanto, além dos

aspectos comerciais, o melhor conhecimento técnico dos elementos envolvidos será importante para uma produção eficiente e lucrativa de um produto cuja principal característica é o elevado valor que agrega (MAIA, 2012).

O Brasil destaca-se, na produção mundial de OE, mas sofre com problemas crônicos como falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor, que levam ao quadro estacionário observado. Recentemente, foi fundada a ABRAPOE (Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais) que busca, entre outras metas, colaborar na aproximação entre os produtores e os centros de pesquisa nacionais, para agregar qualidade aos óleos, por meio de pesquisas e estudos de padronização, fornecer dados atualizados de mercado e representar a área frente aos órgãos e programas governamentais (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

É crescente o mercado de óleos essenciais, nutracêuticos, alimentos funcionais e outros produtos derivados de vegetais. Pesquisas mostram o grande número de aplicações possíveis dos óleos essenciais, pelas suas frequentes atividades antimicrobianas, antioxidantes, dentre outras (SILVEIRA et al., 2012).

Bagetta et al. (2010) relatam sobre a crescente produção de óleo essencial, conforme a demanda, especialmente, para as áreas de produtos de perfumaria e indústria cosmética, mas também uma crescente demanda das indústrias alimentícias e farmacêuticas.

O Eugenol é um composto encontrado em algumas plantas, muito extraído a partir do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). Quando extraído, ele aparece como um líquido amarelo-claro com cheiro forte de cravo. O eugenol tem o nome derivado, a partir do nome científico para cravo, *Eugenia aromaticum* ou *Eugenia caryophyllata*. O eugenol, 2-metoxi-4-(2-propenil) fenol, com fórmula molecular: C10H12O2, Figura 1, largamente, distribuído no

reino vegetal, é encontrado, principalmente no óleo de cravo e plantas do gênero Ocimum (PEREIRA; MAIA, 2007); é um composto fenólico volátil e que mostrou ser um produto eficiente para latência dos animais (BITTENCOURT et al., 2012).

Figura 1 - Estrutura espacial do eugenol.

Em virtude das suas propriedades não mutagênicos e não cancerígenas, eugenol é, geralmente, considerado como seguro pela Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (RAJA et al., 2015).

As análises do óleo são feitas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrofotômetro de massa (CG-MS), de vários modelos. O espectro de massa de cada componente do óleo essencial é comparado aos espectros do acervo das bibliotecas Saturn (GC-MS versão 5.51) e Nist (98 MS, versão 1.7). Confirmando a identificação pelo cálculo do índice de retenção de cada componente (ADAMS, 1997) e utilizando uma série homóloga de hidrocarbonetos (C5 – C20) como picos de referência (BIASI et al., 2009).

A análise sensorial é definida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (1993) como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

A análise sensorial, normalmente, é realizada por uma equipe montada para analisar as características sensoriais de um produto para um determinado fim. Pode - se avaliar a seleção da matéria-prima a ser utilizada, em um novo produto, o efeito de processamento, a qualidade da textura, o sabor, a estabilidade de armazenamento, a reação do consumidor, entre outros (TEIXEIRA, 2009), alguns casos utilizando escala hedônica (PERYAN; PILGRIM, 1957), método de graduação da preferência.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material vegetal

3.1.1. Produção de mudas e cultivo

O experimento foi realizado no Horto de Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA), na cidade de Lavras, Estado de Minas Gerais, coordenadas 21°14'06" de latitude Sul e 45° de longitude Oeste, a uma altitude de 918 m.

As mudas foram obtidas por propagação vegetativa de estacas de caule basais, coletadas na cidade de Lavras – MG, com, aproximadamente, 10 a 12 cm de comprimento com duas folhas pela metade, oriundas de plantas maduras assegurando a ausência de doenças e apresentando bom vigor vegetativo (Figura 2).

Figura 2 - Obtenção de mudas de *Ocimum gratissimum*. (A) Planta adulta, (B) Estacas e (C) Mudas.



Na produção das mudas, foram utilizados sacos de polietileno e o substrato foi composto por uma mistura de três partes sendo uma de terra, uma de areia e uma de esterco bovino curtido. As mudas permaneceram, em casa de vegetação da horticultura sob irrigação por aspersão, pelo período de 60 dias, após este período, foram aclimatizadas por 10 dias. Ao fim do período de

aclimatização, foi realizado o transplante para canteiros definitivos da Horta de Plantas Medicinais, em outubro de 2014, com espaçamentos 0,6 m entre plantas e 0,4 m entre linhas.

Enquanto aclimatava as mudas, o canteiro foi preparado com a incorporação de esterco de galinha na proporção de 1,3 Kg m⁻² e adição de 2 L de composto orgânico por cova. O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (LVD), segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2006). Após o transplantio, foi colocada a irrigação por aspersão, com mangueiras perfuradas do tipo "Santeno". Durante 120 dias, foram feitos tratos culturas e não foi observada a incidência de pragas ou doenças. Para maior rendimento da biomassa, foram feitos cortes das inflorescências, seguindo recomendação de Costa et al. (2007).

3.1.2. Identificação do material vegetal

Exsicata da planta de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) foi depositado, no herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), em Belo Horizonte, sob registro PAMG 57.857 em triplicata.

3.1.3. Variáveis climáticas

Durante todo o experimento, no mês anterior à colheita e extração, foram coletadas as variáveis climáticas referentes à temperatura média (°C), precipitação pluvial (mm), umidade relativa (%) e insolação (h). Os dados destas variáveis encontram-se dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis meteorológicas registradas no período do experimento na UFLA/Lavras – MG, 2015/2016. Precipitação acumulada e médias de temperatura, umidade relativa e insolação.

Mês	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)	Umidade (%)	Insolação (h)
02/2015	200	24	73	7
06/2015	30	19	78	8
10/2015	25	24	60	9
02/2016	300	25	75	7

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)

3.1.4. Colheita do material vegetal

Foram feitas quatro colheitas, sendo a primeira aos 120 dias após o plantio das mudas (fevereiro de 2015) e mais três a cada 120 dias (240, 360 e 480 dias após o plantio definitivo).

O primeiro corte foi aos 120 dias de idade e a altura de 30 cm do solo que proporciona maior produção de biomassa e óleo essencial conforme Blank et al. (2005). O horário de corte da planta foi às 7h 30min, horário de maior concentração do eugenol, segundo Luz et al. (2009). No horário específico, os ramos das plantas eram colhidos e, imediatamente, retirada toda a biomassa foliar, pesada e levada ao destilador. Esse procedimento foi repetido com 240, 360 e 480 dias.

3.2. Obtenção do óleo essencial

O material foi colhido, após o corte e levado, ao Laboratório Multiuso de Fitoquímica do DAG, onde as folhas foram separadas dos caules e talos. O material foi pesado, 600 gramas cada amostra e colocado na cesta de contenção do destilador. Para cada amostra de óleo, Tabela 2, foram feitas dez extrações no mesmo horário e em dias consecutivos.

Tabela 2 - Períodos de extração de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

Amostra	Período de Extração
OEOGA1	2/2015
OEOGA2	06/2015
OEOGA3	10/2015
OEOGA4	2/2016

O óleo essencial foi extraído das folhas frescas, com teor de umidade de 77,80%, por destilação por arraste a vapor de água, em destilador Marconi MA480, por 90 minutos (COSTA; FERREIRA; FAZZIO, 2012). Concluída a extração, o óleo essencial foi coletado por pipeta e armazenado em frascos de vidro âmbar e refrigerado a 0 °C, até a realização da caracterização química.

3.2.1. Caracterização química

As análises de composição química dos óleos essenciais foram realizadas, no Laboratório Multiuso de Fitoquímica do DAG, em um sistema de Cromatografia em fase Gasosa Agilent® 7890A, acoplada a um detector seletivo de massas Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scam s⁻¹, com intervalo de aquisição de massa de 4 a 40 m z⁻¹. Utilizou-se uma coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 mm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). O gás hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 ml min⁻¹; as temperaturas do injetor e da linha de transferência para o MS foram mantidas em 230 °C. A injeção foi realizada no modo Split a uma razão de injeção de 1:10. As concentrações dos constituintes presentes na fração volátil foram expressas pela porcentagem de área relativa do cromatograma total de íons.

A identificação dos constituintes foi realizada por comparação dos seus índices de retenção relativos (IR) e coinjeção com padrões autênticos de nalcanos (C8 – C20. Sigma – Aldrich[®], St Louis, USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram calculados usando a equação de Van Den Dool e Kratz (1963) e para as atribuições foram consultados índices de retenção da literatura (ADAMS, 1997; DAVIES, 1990).

3.3. Obtenção da bebida formulada

A cachaça utilizada (com registro no Ministério da Agricultura sob o nº MG 0541400001-9) foi obtida, em alambique da cidade de Lavras, possuindo um teor alcoólico inicial de 42º GL, sendo, posteriormente, reduzido a 30º GL, dentro do limite estabelecido pelo Decreto Nº 6871 de 04/06/2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas (BRASIL, 1994, 2009). O teor alcoólico foi determinado por densitometria a 20 °C, utilizando-se o método do picnômetro, conforme Instituto Adolfo Lutz (2008).

O xarope foi obtido pela simples fervura do açúcar com água até completa dissolução (PENHA et al., 2003), procedimento este que facilitará a posterior homogeneização com a solução hidroalcoólica.

O xarope de sacarose foi preparado, segundo Penha et al. (2003), na proporção de 2:1 m/v de açúcar cristal comercial (sacarose) e água destilada. O açúcar foi dissolvido em água aquecida em fogo brando, sob agitação, até completa dissolução. O xarope foi preparado cerca de 24h antes da formulação da bebida e guardado, na geladeira, para que, quando adicionado à cachaça, não ocorresse perda de álcool por evaporação em razão do aquecimento.

A formulação das bebidas foi executada na sala de envasamento do Laboratório Multiuso de Fitoquímica do DAG. As formas de manipulação

seguiram as normas básicas de higiene e segurança evitando contaminação das bebidas. Durante a manipulação, os equipamentos, utensílios e ambiente foram limpos e esterilizados assim como as bancadas do laboratório, assepsiadas com hipoclorídrico de sódio, e o manipulador utilizou luvas de látex, jaleco e toca para cabelo, eliminando os riscos de contaminação. Foram confeccionados 4800 mL para a realização dos testes sensoriais.

Incialmente, foram adicionados 2% de açúcar cristal na forma de xarope. Em seguida, adicionada água mineral para reduzir o teor alcoólico para 30° GL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Posteriormente, foi dividido em quatro béqueres e adicionado o óleo essencial de *O. gratissimum* na concentração indicada. Foram utilizadas quatro concentrações diferentes do óleo 200, 300, 400 e 500 µL para 1000 mL de cachaça.

3.4. Análise sensorial

Projeto de pesquisa foi registrado na PLATAFORMA BRASIL, CAAE: 53816616.5.0000.5148, com o parecer consubstanciado aprovado pelo Comissão Ética em Pesquisas com Seres Humanos (COEP) da Universidade Federal de Lavras, sob o nº 1.605.631.

Para análise sensorial, foi realizado um teste afetivo de preferência e aceitabilidade das bebidas. No teste de Aceitação, é avaliado o quanto um consumidor gosta ou desgosta de um determinado produto e, no teste de Preferência, é determinada a preferência que o consumidor tem sobre um produto em relação a outro, utilizando a escala hedônica (PERYAN; PILGRIM, 1957), de nove pontos, para avaliação (Figura 3). Os provadores foram instruídos que a escala hedônica de nove pontos é um método de graduação de preferência que expressa sua aceitação pelo produto, com base nos atributos

gostei e desgostei, sabendo quais as principais características do produto em estudo (DUTCOSKY, 2011).

Figura 3 - Escala hedônica de nove pontos.

- 9 gostei extremamente
- 8 gostei muito
- 7 gostei moderadamente
- 6 gostei ligeiramente
- 5 nem gostei/nem desgostei
- 4 desgostei ligeiramente
- 3 desgostei moderadamente
- 2 desgostei muito
- 1 desgostei extremamente

O grupo de provadores foi selecionado, após uma triagem entre pessoas de ambos os sexos, acima de 18 anos de idade com boa saúde, que faz parte dos grupos de alunos de pós-graduação e técnicos da UFLA disponíveis e, em condições para provar o produto, com o perfil adequado para a pesquisa, que já tinham o hábito de ingerir bebidas alcoólicas e com o mínimo de conhecimento acerca das características de um aperitivo, seguindo orientações do Conselho de ética.

Após o recrutamento e seleção, os provadores receberam orientações e informações sobre como avaliar as bebidas. Para evitar fadiga sensorial, os provadores foram orientados a avaliar as quatro amostras, em três seções, em dias diferentes e consecutivos. As avaliações sensoriais foram realizadas, nas residências dos provadores (teste em domicilio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), espaço habitual de consumo) e, para isso, receberam orientações de como proceder, como e qual o local e o melhor momento para a execução das análises.

O teste, em domicilio, com 20 avaliadores e 3 repetições, garantiu a qualidade do teste com maior número de avaliações e menor número de avaliadores.

Os provadores escolheram horário adequado e o ambiente mais tranquilo de sua residência. De posse do kit (quatro amostras com 10 mL cada), contendo quatro, as amostras codificadas aleatoriamente (código de três números) assim como a ficha de avaliação, procederam da seguinte forma: pegaram a primeira amostra e anotaram o código, na ficha de avaliação, depois sentiram o aroma e anotaram o valor de um a nove (1 - desgostei muitíssimo a 9 - gostei muitíssimo), conforme sua avaliação. Em seguida, saborearam e anotaram sua impressão, atribuindo valores como já citado e repetiram com as quatro amostras, tomando o cuidado de enxaguar a boca, com água, entre uma amostra e outra. Esse procedimento foi repetido, por três dias consecutivos, conforme orientações pré-estabelecidas e aceitas no ato de recrutamento.

3.5. Índice de aceitação

O índice de aceitabilidade (IA) é calculado, considerando-se a nota máxima alcançada na análise sensorial, pelo produto que está sendo analisado, como 100% e a pontuação média. O produto atingindo um percentual igual ou maior que 70% é considerado aceito pelos provadores.

Para o cálculo de Índice de aceitabilidade do produto, foi adotada a expressão IA (%) = A x 100 / B, em que A = nota média obtida para o produto e B= nota máxima dada ao produto (DUTCOSKY, 2011).

3.6. Análise estatística

Os resultados da análise sensorial (teste hedônicos de preferência) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), comparação de médias pelo teste

de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, para a comparação das médias e estatística descritiva. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizandose o programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

Foi utilizado um delineamento com 20 avaliadores, quatro concentrações de óleo essencial de O. gratissimum (200, 300, 400 e 500 μ L/1000 mL de cachaça), em três repetições e avaliadas as variáveis aroma e sabor, por meio de notas de um a nove, conforme escala hedônica (PERYAM; PILGRIM, 1957).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Óleo essencial

Os resultados dos teores do óleo essencial foram expressos em porcentagem de óleo essencial (%) em relação à matéria fresca utilizada. Nas extrações de óleo essencial de *O. gratissimum*, obtiveram –se resultados muito próximos quanto ao rendimento entre os quatros períodos de corte. Os rendimentos dos óleos essenciais foram: OEOGA1 (0,76%), OEOGA2 (0,74%), OEOGA3 (0,72%) e OEOGA4 (0,74%). Observa-se que estes resultados estão dentro dos obtidos em trabalhos apresentados por alguns autores, conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Rendimento de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* de acordo com a referência literária.

	Concentração (%)	Autor
1	0,21	Cortes et al. (1998)
2	1,29	Chaves et al. (2001)
3	0,49	Martins et al. (2008)
4	1,43	Luz et al. (2009)
5	0,13	Borges et al. (2012)
6	1,20	Alvarez et al. (2013)
7	0,70	Pessoa et al. (2015)

A análise do óleo por cromatografia gasosa e espectrometria de massas resultou na identificação de 20 substâncias (Tabela 4), representando mais de 99% da composição. Como constituintes majoritários foram identificados: eugenol, (Z)- β -Ocimeno e (γ) Muuroleno, com rendimento médio acima de 85% na soma dos três.

Tabela 4 - Caracterização química do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

Tabela 4 - Caracterização química do oleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .						
			OEOG	OEOG	OEOG	OEOG
Picos	Constituintes químicos	IR^a	A1	A2	A3	A4
			Área (%)			
1	α-tujeno	926	0,290	0,365	0,231	0,358
2	sabineno	973	0,420	0,416	0,344	0,476
3	mirceno	991	0,367	0,372	0,275	0,346
4	α-terpineno	1031	0,802	-	-	-
5	(Z)-β-ocimeno	1037	15,543	18,428	12,425	14,973
6	(E)-β-ocimeno	1047	0,816	1,055	0,795	0,959
7	γ-terpineno	1058	0,229	0,317	0,187	0,294
8	hidrato de cis-sabineno	1067	0,277	0,383	0,270	0,337
9	linalol	1100	0,442	0,225		0,182
10	allo-ocimeno	1129	0,340	0,391	0,257	0,301
11	terpinen-4-ol	1177	0,304	0,436	0,388	0,417
12	eugenol	1361	64,718	64,538	73,106	69,233
13	α-copaeno	1377	0,810	1,370	0,909	0,874
14	β-bourboneno	1386	0,367	0,551	0,605	0,521
15	β-cubebeno	1391	0,210	0,337	0,248	0,216
16	E- cariofileno	1420	2,804	2,224	2,910	2,698
17	γ-muuroleno	1482	5,645	7,355	6,745	7,408
18	trans-muurola-4(14),5-dieno	1487	0,505	-	-	
19	γ-cadineno	1510	4,286	0,673	-	-
20	δ- amorfeno	1527	0,264	0,413	0,304	0,308

aÍndice de retenção relativo a série de n-alcanos (C_8 - C_{20}) em coluna HP-5MS na ordem de eluição – não detectado.

Os resultados da composição química dos óleos essenciais das folhas apresentaram teores de eugenol de: OEOGA1 (64,72%), OEOGA2 (64,54%), OEOGA3 (73,11%), OEOGA4 (69,23%) (Figura 4).

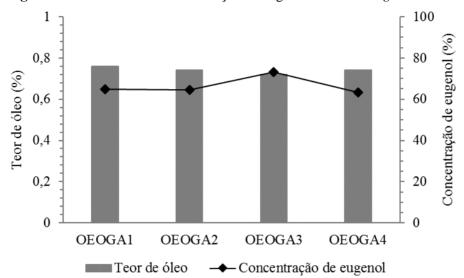


Figura 4 – Teor de óleo e concentração de eugenol de *Ocimum gratissimum*.

Independentemente do período de colheita, o composto químico em maior percentual foi o eugenol e a média das quatro amostras foi de 67,90%.

Alguns autores afirmam que a idade da planta influencia a composição química e o teor do óleo (CHAGAS et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012), até mesmo os constituintes majoritários podem variar, conforme a época de colheita (BEZERRA et al., 2008), condições climáticas e solo (SIMÕES; SCHENKEL; GOSMAN, 2003). No entanto Silva et al. (2007), estudando o desenvolvimento de *O. gratissimum* no que se refere à melhor época de colheita, rendimento e qualidade de seus óleos essenciais, concluíram que os óleos essenciais apresentaram um aumento crescente, no componente majoritário, com o avanço das idades das plantas.

Acompanhando a dinâmica de acumulação de compostos no óleo essencial, verificou-se que o máximo de eugenol (composto majoritário) não coincidiu com o ponto ótimo da produção de óleo essencial do *O. gratissimum*

com teor de 0,76% de óleo na amostra OEOGA1, quando a maior concentração de eugenol foi na amostra OEOG3 com percentual de 73,11%.

Os teores de eugenol, obtidos no presente trabalho, foram superiores aos obtidos por Pereira et al. (2014) que foi de 28,28% de eugenol, Silva Junior (2003) como o principal componente 39,41% de eugenol, Luz et al. (2009) que encontraram 52,60%, no momento de sua maior produção e Vostrowsky et al. (1990) que encontraram 53,90%, para alfavaca colhida na região de Viçosa – MG.

Considerando as estações climáticas com as plantas jovens, verificamos que as extrações feitas no verão (fevereiro 2015) OEOGA1 renderam 64,72% de eugenol e no inverno (junho 2015) OEOGA2 foi 64,54%, não obtendo diferença relativa nas concentrações de eugenol. Só foi observada diferença com a maturidade das plantas, em outubro de 2015, OEOGA3 (73,11%) e OEOGA4 (69,23%) em fevereiro de 2016.

4.2. Bebida formulada

Por meio do teste de aceitação as bebidas formuladas tiveram uma boa aceitação por parte do painel de provadores que atribuíram as seguintes notas médias para aroma das bebidas: 6,49 para as de 200 µl L⁻¹; 6,86 para as de 300 µl L⁻¹; 6,56 para as de 400 µl L⁻¹ e 6,68 para as de 500 µl L⁻¹. E para o sabor foram: 6,43 para as de 200 µl L⁻¹; 6,66 para as de 300 µl L⁻¹; 6,29 para as de 400 µl L⁻¹ e 6,05 para as de 500 µl L⁻¹ As médias estiveram entre seis e sete, indicando que as bebidas foram classificadas como "gostei ligeiramente" a "gostei regularmente".

As notas atribuídas às bebidas formuladas não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 5), mas pode-se observar que as maiores médias foram dadas para a concentração de 300 $\mu L \ L^{-1}$.

Tabela 5 - Valores médios de aceitação para aroma e sabor da bebida formulada com óleo essencial de *Ocimum gratissimum* para cada concentração de óleo.

Concentração de Óleo	Aroma	Sabor
200 μL L ⁻¹	6,49 a	6,43 a
$300~\mu L~L^{\text{-}1}$	6,86 a	6,66 a
$400~\mu L~L^{\text{-}1}$	6,56 a	6,29 a
$500~\mu L~L^{-1}$	6,68 a	6,05 a

Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

As concentrações de óleo essencial não afetaram as notas dadas pelos avaliadores, visto que não foram observadas diferenças significativas entre elas nem para aroma, nem para sabor (Tabela 5). Entretanto observou-se uma preferência dos degustadores, quando a bebida foi aromatizada com 300 μ L L⁻¹ de óleo essencial, atingindo a escala "ligeiramente gostei" conforme as notas atribuídas.

Os resultados, também, poderão ser corroborados pelo índice de aceitabilidade (IA) que é calculado tendo como base as notas obtidas no teste de aceitação (Tabela 6). Segundo Teixeira (1987), para que um produto seja considerado aceito, o IA deve ser superior a 70%. Baseando-se na afirmativa acima, podem-se considerar as bebidas formuladas com concentrações de 200 e 300 µL L⁻¹ que atingiram o IA. A de 300 µL L⁻¹ obteve maiores valores percentuais em aroma e sabor, sustentando o resultado da análise sensorial.

Tabela 6 - Índice de aceitabilidade da bebida aromatizada com diferentes concentrações de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

Concentração de Óleo	Aroma	Sabor
200 μL L ⁻¹	72,11%	71,44%
$300~\mu L~L^{-1}$	76,22%	74,00%
$400~\mu L~L^{\text{-}1}$	72,88%	69,88%
500 μL L ⁻¹	74,22%	67,22%

Na Tabela 7 pode-se observar o resultado da estatística descritiva.

Tabela 7 - Valores médio, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação da aceitação das bebidas com diferentes concentrações de *Ocimum gratissimum* para as características aroma e sabor da bebida formulada.

		AROMA		
	200 μL	300 μL	400 μL	500 μL
Mínimo	2,000	4,000	2,000	2,000
Média	6,491	6,860	6,561	6,684
Máximo	9,000	9,000	9,000	9,000
Desvio Padrão	1,351	1,342	1,701	1,681
Variância	1,826	1,801	2,893	2,827
Coeficiente de Variação (%)	20,816	19,566	25,925	25,155
		SABOR		
	200 μL	300 μL	400 μL	500 μL
Mínimo	2,000	2,000	2,000	2,000
Média	6,439	6,667	6,298	6,053
Máximo	9,000	9,000	9,000	9,000
Desvio Padrão	1,593	1,725	1,679	1,757
Variância	2,536	2,976	2,820	3,086
Coeficiente de Variação (%)	24,735	25,877	26,664	29,026

5. CONCLUSÃO

O *Ocimum gratissimum* L. aromatizou a bebida alcoólica com bons índices de aceitação em todas as concentrações testadas. Pelo índice de aceitação, a melhor aromatização se deu com a concentração de 300 μ L L⁻¹. Com relação ao sabor, apenas as concentrações de 200 μ L e 300 μ L L⁻¹ alcançaram índices de aceitação aceitáveis (acima de 70%). Recomenda-se a concentração de 300 μ L L⁻¹ para utilização em termos fabris.

REFERÊNCIA

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, New York, v. 6, n. 8, p. 671-672, 1997.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4th ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.
- ALVAREZ, A. S. et al. Avaliação das estruturas secretoras de *Ocimum gratissimum* var. macrophyllum Briq. (Lamiaceae) após extração dos constituintes voláteis. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 15, n. 2, p. 237-243, 2013.
- ARGENTA, S. C. et al. Plantas medicinais: cultura popular versus ciência. **Vivências**, Erechim, v. 7, n. 12, p. 51-60, maio 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.806**: análise sensorial dos alimentos e bebidas terminologia. Rio de Janeiro, 1993. 8 p.
- BAGETTA, G. et al. Neuropharmacology of the essential oil of bergamot. **Fitoterapia**, Milano, v. 81, n. 6, p. 453-461, 2010.
- BEZERRA, A. M. E. et al. Produção e composição química da macela em função da época de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 26-29, 2008.
- BIASI, L. A. et al. Adubação orgânica na produção, rendimento e composição do óleo essencial da alfavaca quimiotipo eugenol. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 35-39, 2009.
- BITTENCOURT, F. et al. Benzocaine and eugenol as anesthetics for Golden fish (*Carassius auratus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 6, p. 1597-1602, 2012.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BLANK, A. F. et al. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 780-784, 2005.

BORGES, A. M. et al. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (Origanum vulgare L.) e tomilho (Thymus vulgaris L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 656-665, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília-DF, 2016. 190 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília-DF, 2006b. 60 p.

BRASIL. **Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009**. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em: http://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2009/decreto-6871-4-junho-2009-588673-norma-pe.html. Acesso em: 22 maio 2016.

BRASIL. **Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994**. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersetorial de Bebidas e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L8918.htm>. Acesso em: 21 jun. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006. Aprova a política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n. 6/95, de 31 de janeiro de 1995. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, n. 200, 1995. Seção I, 6.2, 1523 p.

CHAGAS, J. H. et al. Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função da idade e época de colheita em plantas de hortelã-japonesa. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 327-334, 2011.

CHAVES, F. C. M. et al. Influence of organic fertilisation on leaves and essential oil production of *Ocimum gratissimum* L. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 576, p. 273-275, 2001.

- CORTEZ, D. A. G. et al. Análise do óleo essencial da alfavaca *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 2, n. 2, p. 125-127, 1998.
- COSTA, D. D.; FERREIRA, T. C.; FAZZIO, D. M. G. Análise das propriedades antioxidantes da *Ocimum gratissimum* e seu papel no processo de antienvelhecimento. **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**, Valparaíso de Goiás, v. 1, n. 2, p. 141-146, 2012.
- COSTA, L. C. et al. Produção de biomassa e óleo essencial de elixir-paregórico em função do corte das inflorescências e épocas de colheita. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 175-179, 2007.
- DAVIES, N. W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. **Journal of Chromatography** A, Amsterdam, v. 503, p. 1-24, 1990.
- DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**, 2. ed. São Paulo: Unesp, 2002. 592 p.
- DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3. ed. Curitiba: Champagnat, 2011. 426 p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro e classificação de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2006. 306 p.
- FERNANDES, V. F. et al. Anatomia e ultraestrutura foliar de *Ocimum gratissimum* sob diferentes níveis de radiação luminosa, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 6, p. 1037-1042, 2014.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. Plantas aromáticas e medicinais: fatores que afetam a produção. In: ______. Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais. Lisboa: Centro de Biotecnologia Vegetal, 2006. p. 1-18. Curso Teórico-Prático.
- FRANZ, C. M. Essential oil research: past, present and future. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 25, p. 112-113, 2010.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** São Paulo, 2008. 1020 p.

- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Aromatic natural raw materials:** vocabulary: ISO 9235. Genebra, 1997. 8 p.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil:** nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.
- LUZ, J. M. Q. et al. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjericão sob doses de cama de frango. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 349-353, 2009.
- MAIA, N. B. Destilação de óleos em plantas aromáticas geração de emprego e renda no campo. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 8.435-8445, 2012.
- MARTINS, J. R. et al. Avaliação do crescimento e do teor de óleo essencial em plantas de *Ocimum gratissimum* L. cultivadas sob malhas coloridas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 10, n. 4, p. 102-107, 2008.
- MATIAS, E. F. F. et al. Atividade antibacteriana in vitro de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 3, p. 294-298, 2010.
- MIRANDA, C. A. S. F. et al. Correlação entre composição química e eficácia antioxidante de óleos essenciais de plantas condimentares por análise de agrupamentos hierárquicos (HCA). **E-xacta**, Belo Horizonte, v. 7, n. 1, p. 65-74, 2014.
- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.
- NAVARRO, T.; EL OUALIDI, J. Trichome morphology in Teucrium L. (Labiatae): a taxonomic review. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, Madrid, v. 57, n. 2, p. 277-297, 1999.
- OLIVEIRA, A. R. M. F. et al. Influência da idade da planta na produção de óleo essencial de alevante. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 2, p. 241-245. 2012.
- OOTANI, M. A. et al. Use of essential oils in agriculture. **Journal Biotechnology Biodiversity**, Gurupi, v. 4, p. 162-175, 2013.
- PASSOS, M. G.; CARVALHO, H.; WIEST, J. M. Inibição e inativação in vitro de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. ("alfavação",

- "alfavaca", "alfavaca-cravo") Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 1, p. 71-78, 2009.
- PENHA, E. M. et al. Efeito dos teores de álcool e açúcar no perfil sensorial de licor de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 1, p. 33-42, 2003.
- PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 624-632, 2007.
- PEREIRA, V. S. et al. Estudo químico, toxicidade e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, Juazeiro do Norte, v. 2, n. 4, p. 1-5, 2014.
- PERYAM, D. R.; PILGRIM, F. J. Herdonic scale method for measuring food preference. **Food Technology**, Chicago, v. 11, n. 9, p. 9-14, 1957.
- PESSOA, S. et al. Total biomass and essential oil composition of *Ocimum gratissimum* L. in response to broiler litter and phosphorus. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 18-25, 2015.
- RAJA, M. R. C. et al. Versatile and Synergistic Potential of Eugenol: a review. **Pharmaceutica Analytica Acta**, Big Rapids, v. 6, p. 367, 2015.
- SILVA JUNIOR, A. A. **Essentia herba–Plantas bioativas**. Florianópolis: Epagri, 2003.
- SILVA, M. A. S. et al. Efeito da época de colheita sobre a produção de biomassa, rendimento e composição do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. sob as condições do norte do Mato Grosso. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 4., 2007, Fortaleza. **Anais**... Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2007. 1 CD-ROM.
- SILVEIRA, J. C. et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, 2012.
- SILVESTRI, J. D. F. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (Eugenia caryophyllata Thunb.). **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 57, n.5, p. 589-594, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: UFSC, 2003. 920 p.

TAVEIRA, F. S. N. et al. Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla*. **Biochemical Systematics and Ecology,** Oxford, v. 31, p. 69-75, 2003.

TEIXEIRA, E.; MENERT, E. M.; BARBERTA, P. A. Análise sensorial de alimentos. Florianópolis: UFSC, 1987. 180 p.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas: liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O Gênero Copaifera L. **Química nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 273-86, 2002.

VOSTROWSKY, O. et al. Essential oil of Alfavaca, *Ocimum gratissimum* L., from Brazilian Amazon. **Zeitschrift-fur-Naturforchung**, Tübingen, v. 45, n. 9-10, p. 1073-1076, 1990.