

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

MARIA LAUREN DEFERRARI ARROJO FREITAS

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA E
OLEOGEL DE AZEITE DE OLIVA: UMA ALTERNATIVA PARA PANIFICAÇÃO**

Bagé

2024

MARIA LAUREN DEFERRARI ARROJO FREITAS

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA E
OLEOGEL DE AZEITE DE OLIVA: UMA ALTERNATIVA PARA PANIFICAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Engenharia de Alimentos da Universidade
Federal do Pampa, como requisito parcial
para obtenção do Título de Bacharel em
Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Miriane Lucas
Azevedo

Bagé

2024

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

F332a Freitas, Maria Lauren Deferrari Arrojo
Avaliação da aplicação de óleo essencial de cravo-da-índia
e oleogel de azeite de oliva: uma alternativa para
panificação / Maria Lauren Deferrari Arrojo Freitas.
73 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 2024.

"Orientação: Miriane Lucas Azevedo".

1. oleogel. 2. conservante natural. 3. pão. 4. gordura
hidrogenada. 5. Syzgium aromaticum. I. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal do Pampa

MARIA LAUREN DEFERRARI ARROJO FREITAS

AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA E ÓLEO GEL DE AZEITE DE OLIVA: UMA ALTERNATIVA PARA A PANIFICAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 16 de julho de 2024.

Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Miriane Lucas Azevedo
Orientadora
(UNIPAMPA)

Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Manera Ziotti
(UNIPAMPA)



Assinado eletronicamente por **MIRIANE LUCAS AZEVEDO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 02/08/2024, às 09:42, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **ANA PAULA MANERA ZIOTTI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 02/08/2024, às 10:10, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1507121** e o código CRC **4E223D92**.

Referência: Processo nº 23100.013212/2024-18 SEI nº 1507121

AGRADECIMENTOS

Ao chegar no final desta importante etapa, sinto-me imensamente grata por toda a transformação que aconteceu em minha vida. Obrigada Deus, por ser imensamente generoso comigo, agradeço a Todos que me protegem e me fortalecem diariamente.

Agradeço os meus pais, Carmen Lúcia e Lauro, por terem me encorajado e apoiado incondicionalmente para que chegasse até aqui, reconheço os esforços e orações/conversas que foram feitas para que eu me mantivesse firme nessa jornada. Minha eterna gratidão a minha Tia Avó Neli (*in memoriam*), e aos meus Avós Jesus e Neli (*in memoriam*) e a Vó Elia, o teu amor me torna mais resiliente.

Sou grata pelo Antônio por estar comigo nessa e tantas outras fases, o teu amor e apoio foram essenciais para chegar até aqui. Agradeço as amigadas que fiz no curso, Gabriela, Caroliny, Ana e Julia, com vocês eu pude rir dos momentos difíceis, chorar de felicidade e permanecer forte diante de todos os desafios que só nós sabemos que passamos durante a graduação. Sou grata pelas amigadas que fiz em Bagé, João e Stephane vocês estiveram comigo em toda essa jornada e fazem parte da minha história.

Agradeço à minha orientadora Prof^a. Dr^a Miriane Lucas Azevedo, eu lhe admiro muito como profissional e principalmente como pessoa, aprendi a ser mais positiva, alegre e persistente contigo, gratidão por todos os ensinamentos. Agradeço aos técnicos Candice e Luciano, vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Gostaria de agradecer aos professores do curso, vocês fazem a diferença no mundo. Também gostaria de agradecer à Universidade Federal do Pampa, por ser gratuita e com ensino de qualidade.

Por último, mas não menos importante, sou grata a minha tia Maria de Fátima, por sempre me incentivar seguir os meus sonhos e por todas as conversas e apoio, por me encorajar a encarar a vida de forma leve e sempre agradecer. Agradeço a todos os meus familiares que sempre torceram por mim.

Agradeço de coração a todos que fizeram e fazem parte dessa trajetória. Com o apoio de vocês e as experiências adquiridas durante esses anos de graduação, pude me tornar uma pessoa melhor. Espero retribuir e devolver para a sociedade todo

o conhecimento que adquiri, atuando como uma profissional correta e empática.
Gratidão, Gratidão, Gratidão.

RESUMO

O pão, um dos alimentos processados mais antigos, desempenha um papel de destaque na pirâmide alimentar, sendo uma fonte rica em carboidratos, gorduras, vitaminas e fibras. No entanto, este alimento está suscetível a diversas formas de contaminação, desde a matéria-prima até a etapa final de embalagem. Isso levanta a necessidade de utilizar conservantes químicos para garantir a qualidade, segurança e prolongar a vida útil do produto nas prateleiras. Entretanto, o uso desses conservantes em alimentos podem representar um risco químico para algumas pessoas, como reações alérgicas. Surge, assim, a necessidade de um substituto, como um conservante natural. Os óleos essenciais (OE's) apresentam diversos benefícios e podem ser considerados como uma opção viável nesse sentido. Contudo, outra preocupação está relacionada aos ingredientes do pão, especialmente às gorduras vegetais hidrogenadas. Essas gorduras contêm ácidos graxos trans, que são associados a diversos problemas de saúde, como doenças cardiovasculares, inflamações e aumento do colesterol LDL ("ruim"). Assim posto, o presente trabalho teve como objetivo produzir um pão com adição de óleo essencial de cravo-da-Índia e substituição da gordura vegetal hidrogenada por oleogel de azeite de oliva. No presente estudo a extração de óleo essencial de cravo da Índia, por hidrodestilação, obteve um rendimento de 5,96%, já a capacidade de inibição frente ao DPPH foi de $91,17\% \pm 0,277$. Portanto, o óleo essencial de cravo-da-Índia se mostra um excelente substituto ao uso de antioxidantes sintéticos. Quanto a sensibilidade das bactérias *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli* frente ao OE's, foi de $22,35 \text{ mm} \pm 0,44$ e $20,57 \text{ mm} \pm 0,02$ na formação de halos de inibição, respectivamente, demonstrando extrema sensibilidade. As formulações dos pães quanto às substituições se mostraram eficientes, a substituição da gordura vegetal pelo oleogel feito com azeite de oliva da região da campanha do Rio Grande do Sul, demonstrou características visuais de estrutura e cor, teor de umidade e A_w semelhantes às da formulação padrão, ademais, em conjunto com o óleo essencial de cravo-da-Índia apresentou resultados positivos quanto à conservação dos pães, aumentando até 7 dias a vida útil, quando comparado ao pão controle. Portanto, este estudo indica que a aplicação de óleos essenciais é uma excelente alternativa como conservante natural em pães. Além disso, demonstra que o oleogel pode ser utilizado na produção de pães, mantendo suas características físicas desejadas

Palavras-chave: oleogel; conservante natural; pão; gordura hidrogenada; *Syzygium aromaticum*.

ABSTRACT

Bread, one of the oldest processed foods, plays a prominent role in the food pyramid, being a rich source of carbohydrates, fats, vitamins, and fibers. However, this food is susceptible to various forms of contamination, from raw materials to the final packaging stage. This raises the need to use chemical preservatives to ensure the quality, safety, and extend the shelf life of the product. However, the use of these preservatives in food can pose a chemical risk for some people, such as allergic reactions. Thus, the need for a substitute arises, such as a natural preservative. Essential oils (EOs) present various benefits and can be considered a viable option in this regard. However, another concern is related to the ingredients of bread, especially hydrogenated vegetable fats. These fats contain trans fatty acids, which are associated with various health problems, such as cardiovascular diseases, inflammations, and increased LDL ("bad") cholesterol. Thus, this study aimed to produce bread with the addition of clove essential oil and the replacement of hydrogenated vegetable fat with olive oil oleogel. In this study, the extraction of clove essential oil by hydrodistillation yielded 5.96%, and the inhibition capacity against DPPH was $91.17\% \pm 0.277$. Therefore, clove essential oil proves to be an excellent substitute for the use of synthetic antioxidants. Regarding the sensitivity of the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to the EOs, inhibition halos of $22.35 \text{ mm} \pm 0.44$ and $20.57 \text{ mm} \pm 0.02$, respectively, were formed, demonstrating extreme sensitivity. The formulations of the bread with the substitutions were efficient; the replacement of vegetable fat with the oleogel made with olive oil from the Campanha region of Rio Grande do Sul showed visual characteristics of structure and color, moisture content, and A_w similar to the standard formulation. Furthermore, in combination with clove essential oil, it showed positive results regarding the preservation of the bread, increasing its shelf life by up to 7 days compared to the control bread. Therefore, this study indicates that the application of essential oils is an excellent alternative as a natural preservative in bread. Additionally, it demonstrates that oleogel can be used in bread production while maintaining its desired physical characteristics.

Keywords: oleogel; natural preservative; bread; hydrogenated fat; *Syzygium aromaticum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tipos de conservantes alimentares.....	25
Figura 2 – Estrutura química de alguns compostos terpênicos.....	28
Figura 3 – Cravo-da-índia.....	30
Figura 4 – Árvore, folhas, frutos e botões florais secos do cravo-da-índia.....	31
Figura 5 – Equipamento laboratorial de hidrodestilação Clevenger.....	33
Figura 6- Equipamento de hidrodestilação.....	34
Figura 7 - Sistema de Hidrodestilação utilizado para a extração do OE's.....	41
Figura 8 - Separação da mistura recolhida de água + OE.....	41
Figura 9- Ingredientes do oleogel antes da emulsão.....	45
Figura 10- Halo de inibição utilizando a técnica de disco de difusão.....	52
Figura 11- Avaliação visual da formação de gel no oleogel.....	53
Figura 12- Pães assados com diferentes formulações.....	54
Figura 13- Atividade de água das formulações dos pães.....	56
Figura 14- Observação dos pães no período de 15 dias, destacando os dias que apresentou mudança no estado físico.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Atividade antioxidante dos OE's.....	51
Tabela 2- Halo de inibição frente às bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> e a <i>Escherichia coli</i>	52
Tabela 3- Capacidade de inibição ao DPPH em % dos pães nas diferentes formulações.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Principais constituintes de alguns óleos essenciais.....	29
Quadro 2 – Porcentagem dos constituintes do óleo essencial de <i>S. aromaticum</i>	32
Quadro 3 – Trabalhos encontrados sobre ação do óleo essencial de cravo-da-índia.....	35
Quadro 4- Classificação pelo diâmetro do halo de sensibilidade de diferentes óleos.....	45
Quadro 5- Classificação definida para análise visual dos oleogéis.....	46
Quadro 6 – Formulações dos pães.....	47
Quadro 7– Ingredientes do pão de forma controle.....	47
Quadro 8 - Teor de umidade dos pães.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS

°C – Grau Celsius

µL – micromol

BFS – botões florais secos

BRF – Boas práticas alimentares

BOD – Incubadora

CG – Cromatografia em fase gasosa

CG-EM – Cromatografia gasosa acoplada À espectrometria de massa

CG-FID – cromatografia gasosa com detector de chama

CLAES – cromatografia líquida de alta eficiência

DIC – Detector de chama

DPPH –(2,2-difenil-1- picril-hidrazil)

EM – detector de massa

FSE – folhas secas em estufa

FSS – folhas secas ao sol

FV – folhas verdes

HDL – lipoproteína de alta densidade

IDA – Ingestão Diária aceitável

IN – instrução normativa

INS – Sistema Internacional de Numeração

LDL – lipoproteína de baixa densidade

m1 – massa dos botões florais secos

m2 – massa do óleo obtido

MAG – monoacilgliceróis

Mf – massa so pão seco

Mi – massa inicial do pão

mL – mililitros

nm – nanômetro

Oes – Óleos Essenciais

Pen – pedúnculo

UFC – Unidade formadora de colônia

LISTA DE SIGLAS

ABIP – Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FAO – Food and Agriculture Organization

OMS – Organização Pan-Americana da Saúde

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

UNIPAMPA – Universidade Federal do Pampa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVO	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3 REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1 Pão.....	20
3.1.1 Função dos ingredientes	21
3.1.2 Deterioração de pães	22
3.1.3 Aditivos utilizados na produção de pães	23
3.1.3.1 <i>Conservantes</i>	24
3.1.3.2 <i>Conservantes naturais</i>	26
3.2 Óleos essenciais	27
3.2.1 Cravo-da-índia	30
3.2.2 Composição química do óleo essencial do cravo-da-índia.....	31
3.2.3 Extração do óleo essencial	32
3.2.4 Capacidade antimicrobiana.....	34
3.3 Gordura vegetal hidrogenada x organogel	35
3.3.1 Agente estruturante	37
3.3.2 Base lipídica	37
4 METODOLOGIA	39
4.1 Material.....	39
4.1.1 Óleo essencial	39
4.1.2 Base lipídica	39
4.1.3 Agente estruturante	39
4.1.4 Ingredientes do pão	39
4.2 Métodos.....	39
4.2.1 Etapas do projeto	39
4.2.2 Extração do óleo essencial	40
4.2.3 Análises físico-químicas do OE	42
4.2.3.1 <i>Rendimento</i>	42
4.2.3.2 <i>Análise de pH</i>	42
4.2.4 Análises fitoquímicas.....	42
4.2.4.1 <i>Atividade antioxidante do OE's</i>	42

4.2.5 Atividade antimicrobiana.....	43
4.2.6 Preparo do oleogel.....	45
4.2.7 Preparo do pão.....	46
4.2.8 Análises físico-químicas.....	47
4.2.8.1 Teor de umidade dos pães.....	48
4.2.8.2 Determinação da atividade de água dos pães.....	48
4.2.9 Análises espectrofotométricas dos pães.....	48
4.2.10 Análise visual do desenvolvimento de bolores nos pães.....	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1 Análises físico-químicas do OE.....	50
5.1.1 Rendimento.....	50
5.1.2 Análise de pH.....	50
5.2. Análises fitoquímicas.....	50
5.2.1. Atividade antioxidante.....	50
5.2.2. Fenóis totais.....	51
5.3 Atividade antimicrobiana.....	52
5.4 Avaliação da formação de gel.....	53
5.6. Análises físico-químicas do pão.....	55
5.6.1 Teor de umidade.....	55
5.6.2 Determinação da atividade de água.....	56
5.7. Análises espectrofotométricas dos pães.....	57
5.7.1 Atividade antioxidante.....	57
5.8 Análise visual dos pães.....	58
6 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

O pão é reconhecido como um dos alimentos mais antigos entre os alimentos processados, o termo "pão" é definido como o resultado da cocção, sob condições tecnologicamente adequadas, de uma massa que pode ser fermentada ou não, preparada utilizando farinha de trigo ou outras farinhas que contenham proteínas formadoras de glúten, ou que possam ter essas proteínas adicionadas, combinadas com água, podendo também conter outros ingredientes (BRASIL, 2000).

Embora seja difícil precisar o momento exato de sua "descoberta", é provável que tenha surgido no Oriente Médio, onde a história do cultivo de cereais remonta à Antiguidade. No Brasil, os imigrantes italianos foram responsáveis pela instalação de padarias e disseminação desse alimento durante o século XIX (FREIRE, 2011).

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria (ABIP), são mais de 70 mil padarias espalhadas pelo Brasil. Em 2021, o mercado de panificação e confeitaria faturou R\$ 105,85 bilhões no país, um crescimento de 15,3% em relação a 2020 (ABIP, 2021).

De maneira geral, a base da pirâmide alimentar, é composta por carboidratos, o que justifica o consumo elevado de pão, uma vez que se destaca como uma rica fonte energética. Os ingredientes básicos como, farinha, sal, fermento, açúcar e água não são suficientes para a produção de pães com alta qualidade, com isso, são utilizados outros ingredientes, como aditivos artificiais ou sintéticos, a fim de ter o melhor resultado possível do produto (CUNHA, 2012; CHIN *et al.*, 2010).

As gorduras vegetais hidrogenadas são as gorduras mais empregadas na panificação por serem de fácil manuseio, boa conservação e proporcionam as melhores características tecnológicas (MARTIN *et al.*, 2005).

A hidrogenação parcial resulta na formação de ácidos graxos mono e poli-insaturados, incluindo isômeros trans, além de ácidos graxos saturados. A presença de ácidos graxos trans em alimentos tem levantado preocupações significativas em relação à saúde, especialmente devido ao aumento dos fatores de risco para doenças cardiovasculares. Portanto, tanto a indústria de alimentos quanto os pesquisadores concordam sobre a necessidade de substituir o processo de hidrogenação e as gorduras contendo isômeros trans (MARANGONI, 2014).

Neste contexto, pode-se aplicar o método de estruturação que é conhecido como organogel ou oleogel, onde óleos líquidos, podem desenvolver um material lipídico estruturado por meio de uma rede tridimensional ou que aprisiona o óleo, sendo capaz de conferir uma consistência aos alimentos, ao mesmo tempo promove um possível perfil de ácidos graxos mais saudáveis (ZETZL; MARANGONI, 2011).

Além disso, também se buscam alternativas para substituir os conservantes químicos atualmente utilizados na indústria de panificação, uma opção natural para a conservação é a utilização de óleos essenciais (OEs), que apresentem potencial de barreiras antifúngicas e antimicrobiana, para aplicação em produtos alimentícios (SILVEIRA, 2019).

De acordo com Simões e Spitzer (2000) os OEs consistem em uma mistura complexa de substâncias naturais voláteis, lipofílicas e líquidas sendo derivados de plantas, os compostos presentes podem incluir hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres e ácidos orgânicos fixos, em diferentes concentrações, e sua extração geralmente é obtida através de destilação por arraste com vapor d'água. O óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), segundo Júnior (2006), possui ação antisséptica e eficiência antifúngica como um agente natural.

Esta pesquisa se justifica pela necessidade de encontrar substitutos para as gorduras vegetais hidrogenadas, assim o uso de oleogel é uma abordagem promissora para alcançar esse objetivo visando as mesmas características tecnológicas e com potencial benéfico à saúde.

Ademais, a adição de óleo essencial visa desenvolver uma barreira antifúngica em produtos de panificação, podendo ter implicações positivas na qualidade e na segurança desses alimentos. Portanto, esta pesquisa se ampara na necessidade de aprimorar alternativas mais saudáveis e funcionais para a formulação de produtos alimentícios, com ênfase na melhoria da qualidade e da segurança dos pães.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver um pão com substituição da gordura vegetal hidrogenada por oleogel enriquecido com óleo essencial de cravo-da-índia.

2.2 Objetivos específicos

- Extrair o óleo essencial do cravo-da-índia e caracterizá-lo físico-quimicamente e fitoquimicamente;
- Avaliar a sensibilidade das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* frente ao óleo essencial de cravo-da-índia pelo método de disco de difusão;
- Testar as formulações do oleogel, analisando sua estruturação;
- Substituir a gordura vegetal hidrogenada por oleogel na formulação do pão e adicionar o óleo essencial de cravo-da-índia como conservante;
- Observar a deterioração dos pães pelos testes de prateleira a fim de verificar se o óleo essencial prolonga a vida útil do produto quando comparado ao pão sem conservante;
- Realizar análises fitoquímicas no pão a fim de quantificar a degradação dos antioxidantes após o preparo do produto.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A presente seção tem como objetivo abordar os principais tópicos relacionados ao tema deste trabalho, que se concentra em pães. Além disso, será realizado um levantamento sobre conservantes, explorando sua relevância e aplicação na indústria alimentícia. Uma atenção especial será dedicada aos óleos essenciais, examinando seu potencial como agentes antifúngicos e antimicrobianos em produtos de panificação.

Por fim, será realizada uma discussão sobre organogéis e sua aplicação como alternativa para substituir as gorduras vegetais hidrogenadas, destacando as implicações e benefícios associados a essa abordagem na indústria alimentar.

3.1 Pão

Conforme informação da Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria (ABIP), o pão é um alimento presente nas mesas dos brasileiros e desempenha um papel significativo na economia do país. No momento, existem mais de 80 mil padarias no Brasil, que diariamente produzem produtos de panificação (ABIP, 2023).

O setor de panificação movimentou em 2022, R\$125,22 bilhões. Já nos cinco primeiros meses de 2023 o faturamento alcançou R\$ 58,61 bilhões. Isso significa, mais de R\$ 7,18 bilhões a mais do que no mesmo período de 2022. E a nossa expectativa é que o ano de 2023 feche com um crescimento entre 9 e 12%, na comparação com o ano passado. É o pão contribuindo para a economia do Brasil e gerando renda e emprego para a população (ABIP, 2023).

A ingestão de carboidratos é de extrema importância para o metabolismo humano, uma vez que representa a principal fonte de energia de fácil assimilação para o organismo. No Rio Grande do Sul, o consumo de carboidratos é notavelmente elevado em comparação com o restante do país, devido à influência cultural de origens predominantemente italianas e germânicas, que oferecem uma ampla variedade dessa biomolécula na dieta. Os principais alimentos que fornecem esse nutriente incluem pães, massas e outros produtos (OLIVEIRA, *et al.* 2013).

O pão, derivado da palavra latina "*panis*", é um dos alimentos processados mais antigos produzidos pelo ser humano. Inicialmente, as pessoas consumiam uma

combinação crua de farinha e água. No entanto, por volta de 3000 a.C., os egípcios se tornaram os pioneiros a consumir uma massa fermentada e assada (ESTELLER, 2004).

A resolução RDC nº 90, de 18 de outubro de 2000, define o alimento como o produto obtido pela cocção, em condições tecnologicamente adequadas, de uma massa fermentada ou não, preparada com farinha de trigo e ou outras farinhas que contenham naturalmente proteínas formadoras de glúten ou adicionadas das mesmas e água, podendo conter outros ingredientes (BRASIL, 2000).

Este alimento tem uma grande importância nutricional na dieta da população, pois o pão é constituído principalmente de carboidratos, proteínas, lipídeos e fibras alimentares (TACO/NEPA, 2011).

3.1.1 Função dos ingredientes

Cada ingrediente na formulação do pão tem sua função no resultado do produto, segundo Benassi e Watanabe (1997), os ingredientes mais utilizados na fabricação são:

- Farinha de trigo, que o glúten presente na farinha confere elasticidade e capacidade de formação de gás durante a fermentação;
- Sal que além de agregar sabor e aroma ao pão, auxilia o glúten deixando-o mais elástico;
- Água tem responsabilidade de fazer a distribuição uniforme dos ingredientes na massa e também hidratação da farinha, conferindo funções importantes na fermentação, elasticidade do glúten, consistência da massa, textura e maciez do pão;
- Fermento biológico, normalmente composto pela levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, é responsável pela formação de gás carbônico na fermentação, promovendo a expansão da massa e o crescimento do mesmo além de conferir aroma e sabor típicos dos pães;
- Açúcar tem responsabilidade pela coloração dourada do pão e sabor; os ovos conferem além de valor nutricional, melhora a textura, sabor e cor;
- Gordura é utilizada para conferir maciez, sabor e coloração, além de agregar valor nutricional e prolongar a conservação das qualidades sensoriais; a gordura vegetal hidrogenada em panificação quando misturada na massa,

proporciona aeração, retenção do ar para o crescimento do mesmo, além de melhorar a mastigação funcionando como amaciador.

3.1.2 Deterioração de pães

Os produtos de panificação, como pães e bolos, são especialmente suscetíveis à deterioração causada por fungos. Os pães oferecem condições ideais para o crescimento desses microrganismos, com uma umidade próxima de 40% e uma atividade de água variando entre 0,93 e 0,96 (BRASIL, 2002; ABIMAPI, 2020).

A principal causa da redução da vida útil do pão é a degradação causada por fungos, o que resulta em perdas econômicas significativas devido à necessidade de descartar esses produtos prematuramente pela diminuição de qualidade, que pode ser perceptível pela alteração de cor, sabor, odor entre outros aspectos do produto (SANTOS, 2016).

Forsythe (2013) relatou que mofos e leveduras têm maior tolerância a baixa atividade de água e pH ácido quando comparado com as bactérias. Isso explica por que ele causa deterioração em vegetais e produtos de panificação. O *Rhizopus nigricans* apresentam a deterioração com manchas pretas (mofo de pão), *Penicillium* apresenta-se como mofo verde, *Aspergillus* também apresenta mofo verde e *Neurospora sitophila* apresenta manchas vermelhas.

As matérias-primas são as maiores responsáveis pela origem de contaminação na indústria de panificação, em destaque a farinha, que contém uma quantidade significativa de esporos fúngicos (PITT; HOCKING, 2009).

Segundo Freire (2011) os gêneros de fungos mais comumente encontrados têm sido: *Aspergillus*, *Chrysonilia*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Eurotium* *Fusarium* *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor*. Espécies de *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium* ocorrem com maior frequência.

Santos (2016) investigou a contaminação fúngica no ambiente interno da indústria, nas matérias-primas e em pães mofados. O estudo revelou que *P. citrinum*, *P. paneum* e *P. roqueforti* eram os principais agentes causadores da deterioração, sendo encontrados não apenas nos ingredientes básicos, como farinha de trigo e farinha de centeio, mas também no ambiente de processamento, incluindo áreas de corte e embalagem.

Freire (2011) relatou que o pão sai do forno em condição estéril e só se torna contaminado durante etapas subsequentes, os propágulos bacterianos vegetativos, leveduras, fungos e vírus são eliminados durante o processo de assadura.

Em decorrência de grandes possibilidades de contaminações nos produtos de panificação como: contaminação cruzada, má conduta das boas práticas de fabricação, falhas no layout das instalações, sistema de ventilação inadequada do local, matéria-prima, condições propícias (umidade relativa elevada, temperaturas moderadas, atividade de água, presença de gases e pH), o uso de conservantes se torna indispensável para prolongar a vida de prateleira de alimentos com umidade intermediária. Portanto, deve ser escolhido o melhor aditivo de acordo com as características do produto (MORO, 2019).

3.1.3 Aditivos utilizados na produção de pães

Quanto à categoria, os aditivos adicionados aos pães podem ser categorizados como: conservantes, aditivos nutricionais, corantes, aromatizantes, agentes de texturização e diversos. No que diz respeito aos conservantes, estes são classificados em antimicrobianos, antioxidantes e agentes antiescurecimento (CAROCHO *et al.*, 2014).

No Brasil, de acordo com o Artigo 24º do Decreto-Lei nº 986 de outubro de 1969, o aditivo só é permitido caso seja aprovado pela Comissão Nacional e Padrões para Alimentos. É conhecido que a utilização de aditivos químicos é regulamentada de acordo com a legislação de cada país. Antes de serem autorizados, esses aditivos passam por uma avaliação toxicológica abrangente, que analisa sua eficácia, os tipos de alimentos em que podem ser utilizados e os potenciais riscos à saúde dos consumidores, entre outros aspectos (BRASIL, 2009; BRASIL, 1969).

A portaria nº 540 da Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde de 27 de outubro de 1997, conceitua aditivo alimentar como:

Qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparo, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento (BRASIL, 1997).

Portanto, é possível afirmar que a incorporação de aditivos alimentares é respaldada por motivos tecnológicos, com o propósito de estender o prazo de validade dos alimentos, alterar ou aprimorar as suas propriedades sensoriais, como cor, sabor, aroma e textura, sempre com o objetivo de evitar mudanças indesejáveis e despertar o interesse do consumidor pelo produto (SOUZA *et al.*, 2019).

Os aditivos autorizados para produtos de panificação constam na Resolução n° 383 de 5 de agosto de 1999 da ANVISA. Contudo, a aprovação de um aditivo como BPF não implica que ele possa ser aplicado em todos os tipos de alimentos. Sua utilização é permitida apenas se estiver prevista no Regulamento Técnico específico para a categoria de alimentos correspondente e para uma função determinada.

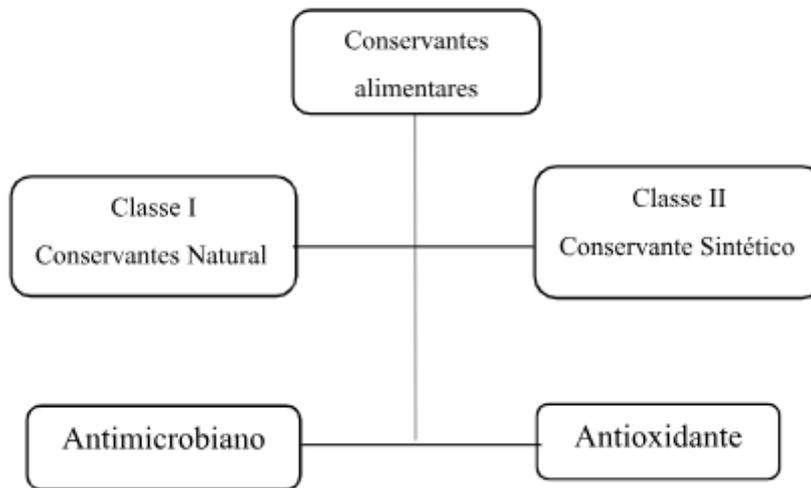
Portanto, os aditivos com Ingestão Diária Aceitável (IDA) estabelecida têm uma quantidade máxima permitida a ser adicionada em cada produto, e é mandatório incluir na lista de ingredientes uma declaração que identifica a função principal ou fundamental do aditivo no alimento, seu nome completo ou seu número INS (Sistema Internacional de Numeração, Codex Alimentarius FAO/OMS), ou ambos. Essas informações devem ser listadas após os ingredientes principais (REGO; VIALTA; MADI, 2020; HONORATO *et al.*, 2013).

3.1.3.1 Conservantes

Os conservantes, também conhecidos como conservadores, têm a finalidade de inibir a ação de microrganismos, como fungos e bactérias, que podem levar ao desenvolvimento de mofo em produtos, tornando-os inadequados para venda e consumo. É essencial administrar a quantidade de conservantes com grande precisão, uma vez que o uso excessivo pode atrasar o processo de fermentação de pães (REGO; VIALTA; MADI, 2020).

Com isso, ele é empregado como agente conservante para inibir o desenvolvimento de micro-organismos no alimento e prevenir sua deterioração (figura 1) mostra a classificação dos conservantes, sendo assim a Classe I está disposta como conservantes naturais, que inclui sal, açúcar, vinagre, especiarias, mel e óleos, a Classe II está relacionada a conservantes sintéticos como ácidos, sais entre outros (SHARIF, *et al.*, 2017).

Figura 1 – Tipos de conservantes alimentares



Fonte: Adaptado SHARIF *et al.*, (2017)

De acordo com o Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas (2011) os conservantes amplamente empregados na panificação incluem o ácido sórbico, o propionato de cálcio e o sorbato de potássio. O ácido sórbico, assim como outros ácidos orgânicos, possuem valor de IDA definida, o uso de quantidades incorretas pode causar efeitos tóxicos quando utilizado em grande quantidade, mesmo sendo um agente de baixa toxicidade (FERRAND *et al.*, 2000).

O propionato de cálcio pertence à categoria de sais do ácido propiônico. Apesar de ter uma atividade antimicrobiana menor em comparação com o ácido a partir do qual é derivado, possui a vantagem de não ser corrosivo. Adicionalmente, ao ser combinado com os demais ingredientes da massa, não promove alterações na cor, odor, sabor, volume ou tempo de cozimento normal do pão (CARILLO; ZAVALA; ALVARADO, 2007).

O sorbato de potássio é um conservante fungicida e bactericida, sendo o sal de potássio do ácido sórbico. Ele atua como inibidor de crescimento de bolores e leveduras, sendo amplamente utilizado na indústria alimentícia para preservação. Embora o ácido sórbico esteja naturalmente presente em alguns frutos, na indústria alimentar, geralmente opta-se pelo uso do sorbato de potássio, pois é mais solúvel em água do que o ácido sórbico.

Este composto é eficaz na prevenção de rancidez e mofo em produtos como margarinas e maioneses, sendo também amplamente empregado na produção de

queijos de corte, frescos e fundidos. Quando aplicado em bebidas, molhos, doces, panificação, entre outras aplicações, o sorbato de potássio evita a formação de mofo e bolores. No entanto, devido à sua capacidade de inibir a ação do fermento, é desaconselhado o uso desse composto em produtos que passam por processos de fermentação (EFSA, 2015).

Apesar de os conservantes sintéticos serem extremamente utilizados na indústria de panificação, os consumidores estão buscando uma redução no emprego de aditivos químicos, o que se traduz em uma aplicação menor de conservantes sintéticos (NIELSEN; RIOS, 2000).

A adição de aditivos ou conservantes em alimentos pode ocasionar problemas para algumas pessoas, representando um risco químico. Os conservantes químicos ou aditivos podem acarretar danos para aqueles que os consomem, tais como alergias, reações gastrointestinais, asma, insuficiência renal e outras patologias de origem alimentar que prejudicam os consumidores (ABDULMUMEEN, *et al.* 2012).

Assim, diante das muitas preocupações que envolvem a indústria de alimentos em relação ao uso de conservantes sintéticos, surge a urgência de encontrar alternativas que atendam às demandas dos consumidores (MOTA, 2018).

As embalagens *clean label* (rótulo limpo) emergiram como uma das tendências na indústria de alimentos, caracterizando-se pela redução ou eliminação do emprego de conservantes químicos (SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012).

3.1.3.2 Conservantes naturais

Kumari *et al.* (2019), afirmam que a utilização de conservantes naturais desempenha uma função positiva na preservação dos alimentos, podendo ser derivados de plantas, animais e minerais. Esses conservantes são benéficos e não apresentam efeitos tóxicos, ao contrário dos conservantes sintéticos.

O emprego de substâncias naturais de origem vegetal torna o alimento mais atrativo ao consumidor, pois não apresentam efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas. Além dos benefícios proporcionados à saúde, diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor de condimentos no desenvolvimento de microrganismos deterioradores e patogênicos veiculados por alimentos (PEREIRA, 2006).

O sal e o açúcar têm sido utilizados como conservantes naturais de alimentos desde a antiguidade. Sua função principal é reduzir a atividade da água (A_w). Em concentrações elevadas, como no caso de xarope e no processo de salmoura ou salga, eles inibem o crescimento de microorganismos, competindo com eles pela água (DA SILVA; MARQUES; CONSTANT, 2021).

A utilização de especiarias para a conservação de alimentos em geral representa uma excelente forma de conservante natural com propriedades antioxidantes. A atividade antioxidante presente nas especiarias é atribuída à presença de compostos como flavonoides e terpenoides, como o timol, carvacrol e eugenol. Diversas especiarias podem ser empregadas, resultando em uma ação eficaz contra a deterioração dos alimentos (DELRÉ; JORGE, 2012).

O uso de óleos essenciais é benéfico para a ação antimicrobiana e antioxidante, sendo recomendada uma quantidade baixa (0,1%) para evitar alterações nas características sensoriais. A combinação de óleos com especiarias como cravo e canela demonstrou efeito bactericida e fungicida. O ranço, associado à deterioração lipídica, pode ser mitigado pela mistura de óleos essenciais, que contribui para inibir microorganismos e oferece potencial antioxidante (PURKAIT *et al.*, 2020).

3.2 Óleos essenciais

A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 2, de 15 de janeiro de 2007, estabelece que óleos essenciais são produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado) (BRASIL, 2007).

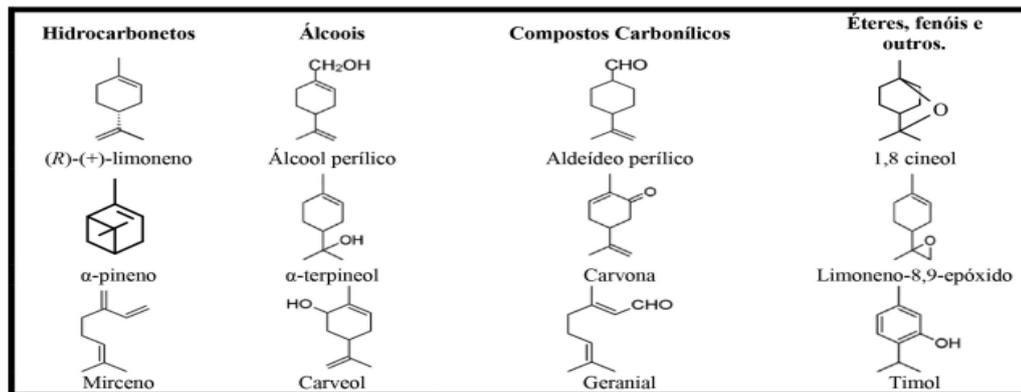
As plantas aromáticas, comumente reconhecidas como especiarias, têm sido empregadas por décadas para realçar o sabor dos alimentos. Além disso, encontram aplicação em contextos medicinais, terapêuticos, farmacêuticos e na produção de cosméticos. A capacidade aromatizante dessas plantas decorre dos óleos essenciais presentes em diversas partes de sua estrutura, os quais demonstram eficácia também como agentes antioxidantes e antimicrobianos (PINHEIRO, *et al.*, 2016).

São formados por compostos voláteis, de cor translúcida e solúveis em lipídeos e solventes orgânicos, compõem essencialmente todos os órgãos das plantas, abrangendo botões, flores, folhas, sementes, ramos, caules, colmos, frutos, raízes e cascas (periderme). Normalmente armazenados em células secretoras, cavidades,

canais, tricomas glandulares ou células epidérmicas, esses compostos apresentam como característica principal a volatilidade, distinguindo-se assim dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas geralmente extraídas de sementes. Quimicamente, os óleos fixos são predominantemente compostos por triacilgliceróis, nos quais ácidos graxos diversos ou idênticos estão esterificados nas três posições hidroxila da molécula de glicerol (SIMÕES; SPITZER, 2000).

A estrutura química dos OEs é composta por elementos fundamentais como carbono, oxigênio e hidrogênio. Sua classificação química é desafiadora, uma vez que são constituídos por uma mistura de diversas moléculas orgânicas, incluindo hidrocarbonetos, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, fenóis, entre outras. Nas plantas, os OEs ocorrem em misturas com diferentes concentrações, geralmente com um composto predominante. A maioria desses óleos é formada por derivados de fenilpropanoides ou terpenoides (contém oxigênio), sendo este último termo utilizado para descrever substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades de isopreno. Os compostos terpênicos (figura 2) mais comuns nos óleos voláteis são os monoterpenos (90%) e os sesquiterpenos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Figura 2 – Estrutura química de alguns compostos terpênicos



Fonte: Felipe e Bicas (2009)

Em geral, os OEs são constituídos por sua maioria por terpenos e seus derivados (quadro 1). Essas substâncias formam um amplo conjunto de moléculas orgânicas produzidas como metabólitos secundários, predominantemente em plantas, com o propósito de prevenir danos causados por agentes externos, com isso, os terpenos apresentam atividade antimicrobiana (VIEGAS JÚNIOR, 2003).

Quadro 1 – Principais constituintes de alguns óleos essenciais

Óleo essencial	Principais constituintes
“Arnica-da-Serra”	Sesquiterpenos (AR-diidroturnerona, AR-curcumeno, AR-turmerol, bisabolol, cadinol, cariofileno, nerolidol, orto acetoxi bisabolol, sesquicineol).
Bergamota	Ésteres de álcoois monoterpênicos (linalil acetato, neril acetato, geranil acetato); monoterpênicos (limoneno, β -pineno, γ -terpineno); monoterpênicos (linalol, geraniol, geranial, neral).
Casca de laranja	Monoterpenos (limoneno, mircenol); sesquiterpeno (β -sinensal, α -sinensal), sesquiterpeno (valenceno); monoterpênicos (decanal, linalol, neral, geranial, citronelal), outros compostos (octanal).
Copaíba	Sesquiterpeno: β -cariofileno
Cravo	Sesquiterpenos (α -humuleno, cariofileno); compostos fenólicos (eugenol, eugenil acetato).
Folha de curry indiano	Sesquiterpenos (β -cariofileno, β -gurjuneno, α -selineno).
Gengibre	Sesquiterpenos (zingibereno, AR-curcumeno, β -sesquifelandreno, bisaboleno); monoterpênicos (canfeno, β -felandreno), monoterpênico (1,8-cineol)
Hortelã pimenta	Monoterpênico (isomentona, (-)-mentol, (-)-mentona, 1,8-cineol, mentofurano); monoterpênicos (limoneno), álcoois (octan-3-ol, oct-1-en-3-ol).

Fonte: Adaptado de: Viegas Junior (2003); Margetts (2005); Baser e Demirci (2007), Pavarini e Lopes (2016).

Do ponto de vista químico, os terpenos podem ser descritos como "alcenos naturais", ou seja, possuem uma dupla ligação carbono-carbono, caracterizando-se como hidrocarbonetos insaturados. Por outro lado, quando um terpeno contém oxigênio, é denominado terpenoide, podendo exibir diversas funções químicas, tais como ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos. Embora apresentem diferenças estruturais entre si, todos os terpenos/terpenoides são essencialmente constituídos por blocos de cinco carbonos - unidades de isopreno (C₅H₈) - geralmente interligados pela ordem "cabeça-a-cauda" (ligação 1-4) (FELIPE; BICAS, 2016).

As propriedades antimicrobianas dos condimentos e de seus óleos essenciais têm sido predominantemente investigadas no que diz respeito ao efeito inibidor sobre microrganismos patogênicos encontrados em alimentos (SOUZA, *et al.*, 2004).

3.2.1 Cravo-da-índia

A palavra em português cravo deriva do latim *clavus*, no qual significa “prego”, associado à sua aparência física (figura 3). O craveiro da Índia pertence à família das mirtáceas (Myrtaceae) e o nome científico é *Syzygium aromaticum* [L] Merr. et Perry. Entretanto, já foi classificado sob diferentes designações, incluindo *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Büllock et Harrison, *Caryophyllus aromaticus* L., *Eugenia caryophyllata* Tumb, e *Eugenia aromatica* (L) Baill (MAEDA *et al.*, 1990).

Figura 3 – Cravo-da-índia



Fonte: Autora (2024)

O cravo-da-índia comumente utilizado refere-se ao botão floral seco da planta *Syzygium aromaticum*, uma árvore (figura 4) de porte arbóreo com uma copa alongada que pode atingir 8 a 10 metros de altura. Suas folhas ovais e aromáticas têm cerca de 7 a 11 centímetros de comprimento. As pequenas flores, dispostas em corimbos terminais, exibem uma tonalidade verde-amarelada impregnada de vermelho, sendo a qualidade para a colheita maior quando as flores se aproximam da coloração avermelhada. Os frutos são drupas elipsoides de coloração avermelhada (AFFONSO *et al.*, 2012).

Figura 4 – Árvore, folhas, frutos e botões florais secos do cravo-da-índia



Fonte: Affonso *et al.* (2012)

Uma das principais utilizações desta espécie é a extração industrial do óleo essencial proveniente dos botões florais, folhas entre outras partes. O óleo essencial puro, assim como produtos derivados dele, desempenham um papel fundamental na odontologia, sendo utilizado como anestésicos. Além disso, o próprio botão floral seco é empregado como tempero. Estes são os principais produtos derivados do cravo-da-índia (AFFONSO *et al.*, 2012).

3.2.2 Composição química do óleo essencial do cravo-da-índia

Os óleos essenciais, quando recém-extraídos, geralmente são incolores ou levemente amarelados, e sua estabilidade é limitada, especialmente na presença de ar, calor, luz, umidade e metais. Apresentam características como atividade óptica e índice de refração, destacando-se pela volatilidade e pela baixa solubilidade em água. Embora sejam frequentemente compostos por centenas de compostos orgânicos, é comum que os óleos essenciais possuam um composto predominante na maioria dos casos (AFFONSO *et al.*, 2012; MAIA; DONATO; FRAGA, 2015).

Em virtude da natureza volátil dos componentes do óleo essencial, a técnica analítica predominante empregada para a quantificação desses constituintes é a cromatografia em fase gasosa (CG) com detector de chama (DIC). Por sua vez, a cromatografia em fase gasosa com detector de massas (EM) é utilizada para a identificação dos constituintes presentes (AFFONSO *et al.*, 2012).

No entanto, Mazzafera (2003) optou por empregar a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a específica determinação do eugenol. Para a identificação de fenóis, adotou a técnica colorimétrica descrita por Swain e Hillis, utilizando o ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) como padrão de referência. Utilizando essas duas abordagens, Mazzafera chegou à conclusão de que o eugenol representa aproximadamente 35% dos fenóis extraídos do cravo-da-índia.

Oliveira *et al.*, (2009) realizaram a identificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) e a quantificação por cromatografia gasosa com detector de chama (CG-FID) (Quadro 2) dos componentes presentes nos óleos essenciais extraídos dos botões florais, talos e folhas de *S. aromaticum*. O objetivo foi avaliar a proporção de cada óleo conforme a parte específica da planta.

Quadro 2 – Porcentagem dos constituintes do óleo essencial de *S. aromaticum*

Componente	Teor (%)				
	FV*	FSS*	FSE*	Pen*	BFS
Eugenol	82,47	87,07	82,07	90,41	88,38
β-cariofileno	10,78	8,29	10,45	3,61	0,64
α-humuleno	1,44	1,08	1,63	0,60	-
Acetato de Eugenila	1,89	-	-	3,76	10,98
Óxido de cariofileno	0,47	-	0,51	-	-

*FV – folhas verdes; FSS – folhas secas ao sol; FSE – folhas secas em estufa; Pen- pedúnculo; BFS – botões florais secos

Fonte: Oliveira *et al.* (2009)

3.2.3 Extração do óleo essencial

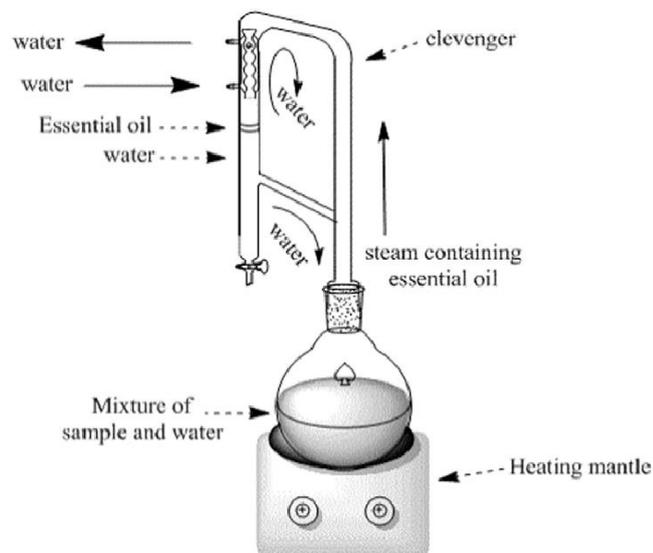
A hidrodestilação é um método que envolve a separação dos componentes voláteis devido à sua pressão de vapor mais elevada em comparação com a água, resultando no arraste desses componentes pelo vapor d'água (PRADO; ROSTAGNO, 2013).

Devido à sua alta volatilidade, o óleo essencial se vaporiza rapidamente com o aumento da temperatura, tornando o método de hidrodestilação altamente eficaz. No processo de extração, a planta aromática é imersa em água fervente, podendo estar flutuando ou submersa. O contato da matéria vegetal com a água em ebulição provoca a abertura das paredes celulares do fruto, resultando na evaporação do óleo presente entre as células devido ao vapor. O óleo evaporado é conduzido junto com a água para o condensador, onde ocorre o resfriamento e a separação devido à diferença de densidade. Para purificar a amostra e eliminar qualquer vestígio de água presente, é fundamental realizar a secagem com sulfato de sódio (Na_2SO_4) anidro, do óleo obtido (SILVA, 2011).

É importante ressaltar que, em alguns casos do processo de destilação de óleo essencial, é necessário realizar a fragmentação do material vegetal. Isso é feito com o intuito de facilitar a remoção do óleo dos tricomas granulares da planta (BUSATO, 2014).

Para extração do óleo essencial por hidrodestilação em escala laboratorial é recomendado o Clevenger, que consiste em equipamento com um balão de fundo redondo, um separador e um condensador (Figura 5) (CLEVENGER, 1928).

Figura 5 – Equipamento laboratorial de hidrodestilação Clevenger

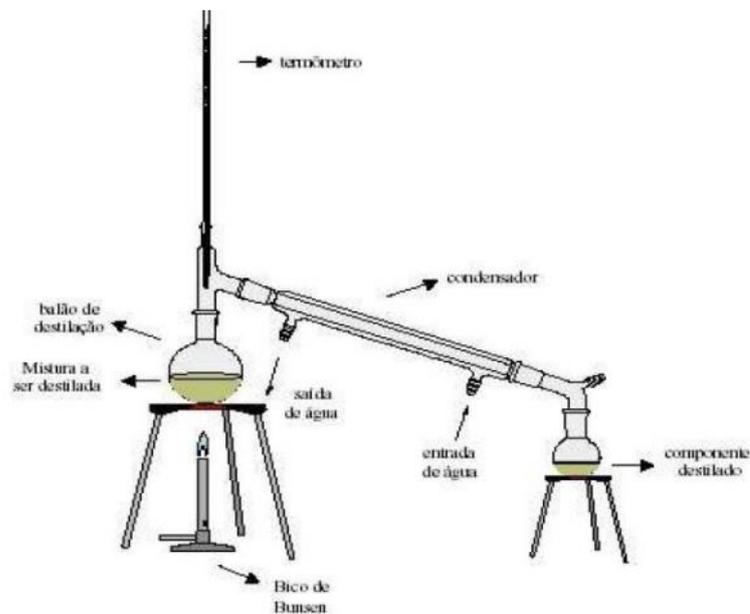


Fonte: Samadi *et al.*, (2016)

Existe também outro equipamento extrator de óleo essencial que envolve um sistema de destilação por hidrodestilação (figura 6). Nesse processo, a matéria-prima

permanece em contato com a água fervente, podendo estar imersa ou flutuante. Com o aquecimento, a água evapora e os vapores formados arrastam os compostos voláteis do óleo. Essa mistura de vapor e soluto é conhecida como hidrolato, que, ao passar pelo condensador, forma uma mistura heterogênea de água e óleo, este equipamento também é muito utilizado na indústria pelo seu rendimento ser satisfatório (GOMES,2003).

Figura 6- Equipamento de hidrodestilação



Fonte: Fernandres (2012)

3.2.4 Capacidade antimicrobiana

Apesar de existirem vários estudos sobre extratos de cravo-da-índia, há uma lacuna na literatura em relação à avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante do óleo essencial dessa especiaria, com foco em sua aplicação na indústria alimentícia (SILVESTRI, 2010).

Estudos realizados por Pereira *et al.* (2008), Oussalah *et al.* (2007) e Scherer *et al.* (2009) confirmaram ação antimicrobiana do óleo essencial de cravo-da-índia sobre *E. coli* e *S. aureus* entre outros, conforme o Quadro 3.

Quadro 3 – Trabalhos encontrados sobre ação do óleo essencial de cravo-da-índia

Autores	Resultados
Pereira et al., 2008	Inibição, tanto para <i>E.coli</i> quanto para <i>S. aureus</i> .
Oussalah et al., 2007	O óleo essencial de <i>Eugenia caryophyllus</i> (cravo), contendo 78% de eugenol, foi eficaz contra as quatro bactérias patogênicas <i>Coriandrum sativum</i> contra <i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. typhimurium</i> e <i>S. aureus</i> .
Scherer et al., 2009	O óleo de cravo-da-índia apresentou melhor atividade antimicrobiana nos microrganismos <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> .

Fonte: Autora (2023).

Adicionalmente, amplia-se o escopo de aplicação dos óleos essenciais (OEs) extraídos do cravo-da-índia, considerando sua viabilidade como alternativa natural antifúngica e antimicrobiana em produtos de panificação, por meio da sua incorporação em um potencial substituto da gordura hidrogenada, conhecido como oleogel.

Essa abordagem não apenas oferece benefícios relacionados às propriedades antimicrobianas do OE, mas também proporciona a oportunidade de substituir a gordura vegetal hidrogenada no pão, destacando a versatilidade e as vantagens dos oleogéis.

3.3 Gordura vegetal hidrogenada x organogel

No Brasil, a produção de óleos vegetais hidrogenados teve início por volta de 1950. O baixo custo, a longa durabilidade, e a estabilidade oxidativa são alguns dos principais motivos que levaram à preferência por esse produto, além de sua consistência sólida à temperatura ambiente, tornando-os adequados especialmente para fins comerciais, como frituras (DIAS *et al.*, 2018).

A hidrogenação é um método prático para unir hidrogênios a óleos, gorduras ou ácidos graxos em estado líquido na presença de um metal utilizado como catalisador, resultando na produção de uma gordura com o ponto de fusão desejado. A hidrogenação é um procedimento que diminui o grau de insaturação, transformando óleos e gorduras em formas saturadas, por meio de uma alteração na configuração conhecida como isomerismo geométrico *trans* (PATTERSON, 1994 *apud*. ZANDONÁ 2021).

Há várias evidências que indicam os riscos associados ao consumo elevado de alimentos ricos em ácidos graxos saturados e trans para a saúde humana, incluindo o desenvolvimento de condições como diabetes *mellitus* tipo II, obesidade e doenças cardiovasculares (LEE, 2018).

Os ácidos graxos *trans* agem diretamente no metabolismo lipídico, resultando no aumento dos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e na diminuição dos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL). Isso, por conseguinte, tem um impacto negativo na proporção entre colesterol total e HDL, contribuindo para um maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e a mortalidade associada a essas condições (MOZAFFARIAN, 2006).

No Brasil, a RDC nº 332, de 23 de dezembro de 2019, proposta pela ANVISA, estabelece os requisitos para o uso de gorduras *trans* industriais em alimentos. Essa resolução requer que a quantidade dessa gordura não ultrapasse 2 g por 100 g de gorduras totais nos alimentos destinados ao consumidor final. Além disso, para gorduras saturadas, a quantidade não deve exceder 6 g por 100 g de alimento (BRASIL, 2019).

A *American Dietetic Association* determina que os substitutos de gorduras sejam ingredientes que desempenhem todas ou algumas das funções da gordura, mas com menor valor calórico. O principal desafio ao desenvolver alimentos com teor reduzido de gordura é alcançar essa redução sem comprometer as características alimentares do produto, mantendo-o o mais próximo possível dos padrões de sabor e qualidade normais associados a gorduras (COLLA; COSTANZO; GAMLATH, 2018).

Entre as tecnologias pesquisadas, têm sido exploradas diversas estratégias para conferir aos óleos líquidos propriedades semelhantes às das gorduras. Uma dessas abordagens consiste na aplicação de certos compostos ao óleo líquido, induzindo a sua gelificação. Essa técnica resulta em um gel com estruturas semissólidas conhecido como organogel (SIRAJ *et al.*, 2015).

Segundo Stortz *et al.* (2012) a definição de oleogel é um “líquido orgânico retido juntamente como uma rede de gel tridimensional termo-reversível. A estrutura que forma essa rede pode ser qualquer polímero ou então, organogeladores de baixo peso molecular.”

Alimentos que incorporam gorduras em sua composição frequentemente demandam uma quantidade significativa de gorduras sólidas saturadas e trans para

alcançarem suas características desejadas. Os oleogéis, por sua vez, são capazes de conferir essas características específicas associadas às gorduras sólidas sem a necessidade de grandes quantidades de gorduras saturadas. Além disso, eles proporcionam maior estabilidade e aumentam a vida útil dos produtos (MARTINS *et al.*, 2018).

3.3.1 Agente estruturante

A maior parte das pesquisas na técnica de organogelificação, concentra-se na descoberta de novos agentes gelificantes, ou combinações desses agentes, capazes de proporcionar uma eficaz gelificação de fases orgânicas em concentrações reduzidas e com custos mais baixos. Um critério essencial, especialmente na área de alimentos, é que esses agentes sejam aprovados para consumo. Uma das características mais importantes para um agente estruturante eficaz é manter uma adequada proporção entre sua afinidade e insolubilidade no solvente orgânico a ser estruturado, assegurando assim a correta auto-organização molecular e a formação de uma rede de gel coesa (PATEL, 2017).

O emprego do monoacilglicerol como agente estruturante tem despertado considerável interesse recentemente, sendo um exemplo representativo de estruturante comestível baseado em pontes de hidrogênio. Esses monoacilgliceróis (MAG) estão entre os poucos sistemas que conseguem se auto associar tanto em meio aquoso quanto em meio orgânico (LUPI *et al.*, 2016).

Os MAG são surfactantes não iônicos, produzidos quimicamente por meio de três métodos principais: catálise enzimática utilizando lipases, hidrólise ou glicerólise de triacilgliceróis, e esterificação ou transesterificação de glicerol com ésteres de ácidos graxos (FREITAS *et al.*, 2008).

3.3.2 Base lipídica

Entre os óleos vegetais comestíveis disponíveis globalmente, o azeite de oliva destaca-se como um dos mais significativos e antigos. Ele é obtido exclusivamente a partir do fruto da oliveira (*Olea europaea L.*) por meio de processos mecânicos ou físicos que preservam suas características originais. O azeite de oliva não é submetido a tratamentos além da lavagem, decantação, centrifugação e filtração (GARCIA-OLIVEIRA *et al.*, 2021; INTERNACIONAL OLIVE COUNCIL, 2023).

O azeite de oliva é composto por aproximadamente 97-99% de triacilgliceróis, sendo que a fração não glicerídica é constituída por mais de 230 compostos, como esteróis, esqualeno, álcoois, álcoois alifáticos, tocoferóis, tocotrienóis, pigmentos (clorofila e carotenoides), compostos fenólicos e voláteis. Esses elementos são os principais responsáveis pelas propriedades biológicas e pelos atributos sensoriais do azeite de oliva (CINELLI; COFELICE; VENDITTI, 2020; SILVA, 2011).

Dessa forma, o azeite de oliva se torna uma opção promissora como base lipídica para a preparação de oleogel. Ele é considerado um dos óleos vegetais mais promissores para essa finalidade, devido aos benefícios à saúde proporcionados pela sua composição de ácidos graxos (oleico, linoleico e linolênico), além de conter componentes menores como tocoferóis e fitoesteróis (MALVANO, 2022).

4 METODOLOGIA

Neste capítulo, apresenta-se os materiais e métodos que foram utilizados para o desenvolvimento do presente trabalho.

4.1 Material

4.1.1 Óleo essencial

O cravo-da-índia foi adquirido no comércio local de Bagé – RS, e as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Engenharia de Alimentos situado na Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA - Campus Bagé-RS.

4.1.2 Base lipídica

O azeite de oliva foi doado por uma empresa do município de Bagé – RS e foi encaminhado para o laboratório de Desenvolvimento Tecnológico de Inovação Aplicados aos Olivais da Região da Campanha, localizado na Universidade Federal do Pampa - Campus Bagé, onde foi preparado o oleogel.

4.1.3 Agente estruturante

Foi utilizado emulsificante da marca Porto gel adquirido no comércio local do município de Bagé-RS.

4.1.4 Ingredientes do pão

Os ingredientes utilizados foram farinha de trigo, fermento biológico seco, açúcar, sal, gordura vegetal hidrogenada comprados no mercado local de Bagé – RS.

4.2 Métodos

4.2.1 Etapas do projeto

Este projeto foi dividido em três etapas para a sua execução:

- Etapa 1 – Extração e caracterização do óleo essencial: OEs foi extraído do cravo-da-índia pelo método de destilação com adaptações. Foi feita a avaliação dos seguintes parâmetros do OEs: rendimento, pH, atividade antioxidante, fenóis totais, atividade antimicrobiana;
- Etapa 2 – Elaboração do oleogel: foi adotado um protocolo de elaboração do produto, onde foi testado a formulação do agente estruturante com a base lipídica;
- Etapa 3 – Formulação do pão e análises: foi elaborada uma formulação de pão de forma no qual foi utilizado o oleogel como substituto da gordura vegetal hidrogenada e a utilização do OEs como conservante. Foram feitas análises físico-químicas como teor de umidade e determinação da atividade de água, assim como análises de atividade antioxidante e fenóis totais.

4.2.2 Extração do óleo essencial

A destilação hidrodestilação por arraste a vapor para a extração do óleo essencial foi realizada em triplicata em dias distintos ao longo de um período de 60 dias. A primeira extração, denominada A, foi realizada no dia 1; a segunda extração, B, no dia 45; e a terceira extração, C, no dia 60, com o objetivo de analisar a estabilidade em relação à atividade antioxidante e ao teor de fenóis totais após o seu armazenamento.

Inicialmente foi feita a fragmentação dos botões florais secos do cravo-da-índia a fim de facilitar a extração do OEs. O óleo essencial de *Syzygium aromaticum* foi extraído pelo método de arraste a vapor com adaptações da hidrodestilação, com o sistema extrator (Figura 7) acoplado a um balão volumétrico (frasco de destilação), com fonte de calor, condensador e balão de fundo chato, durante a destilação continuou-se adicionando água através do funil de separação, numa velocidade que mantivesse o nível original de água no frasco de destilação.

Figura 7 - Sistema de Hidrodestilação utilizado para a extração do OE's.

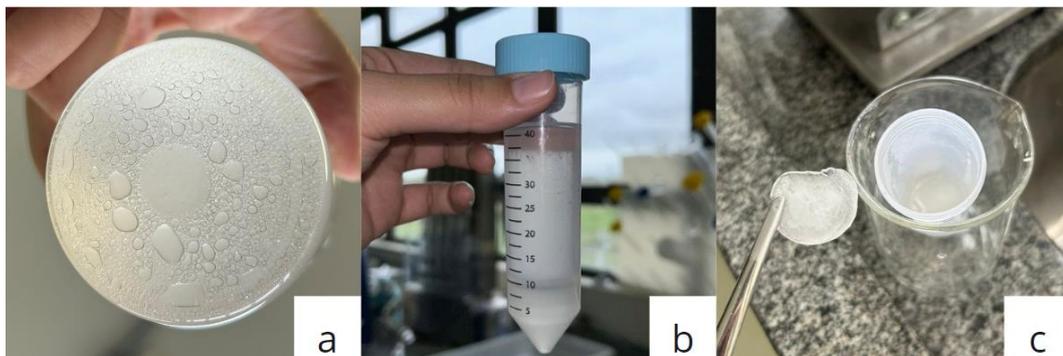


Fonte: Autora (2024)

Para a extração foi pesado 100 g do cravo-da-índia e adicionado 400 mL de água destilada. Utilizou-se a temperatura de 100°C na manta elétrica de aquecimento, a destilação durou em média 3 horas. À medida que se obtinha a mistura de água e óleo essencial recolhida no balão de fundo chato, esta era transferida para tubos Falcon de 50 mL. Para separar a mistura, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 3000 rpm.

Em seguida, foi realizada uma segunda separação com o auxílio de uma pipeta. Para finalizar a separação, as amostras foram armazenadas a - 5°C (freezer convencional) por 24 horas, permitindo que o restante da água se transformasse em gelo, que foi retirado com o auxílio de uma pinça. A Figura 8 ilustra esse processo de separação.

Figura 8 - Separação da mistura recolhida de água + OE



a) mistura da extração de água + OE; b) amostra após centrifugação; c) amostra após 24 h

Fonte: Autora (2024)

A extração foi feita em triplicata de 3 dias diferentes. As amostras foram armazenadas em tubos falcons sobre refrigeração para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis.

4.2.3 Análises físico-químicas do OE

4.2.3.1 Rendimento

O rendimento do OE de cravo-da-índia foi determinado através da relação entre a massa dos botões florais secos utilizados (m_1) e a massa de óleo obtido (m_2), conforme a Equação 1 (DANNENBERG *et al.*, 2016).

$$x = \frac{m_1}{m_2} * 100 \quad (1)$$

4.2.3.2 Análise de pH

A análise de pH foi feita empregando papel indicador de pH.

4.2.4 Análises fitoquímicas

4.2.4.1 Atividade antioxidante do OE's

A capacidade antioxidante do óleo essencial foi avaliada conforme o método proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com adaptações. Foi analisada a habilidade dos compostos presentes nas amostras em neutralizar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila).

Para a extração dos compostos com atividade antioxidante, foi pesada uma quantidade de 1 g da amostra em um tubo Falcon de 50 mL e diluída com 10 mL de metanol. A solução foi homogeneizada até atingir consistência uniforme. Após isso, a amostra foi armazenada por 24 h a temperaturas entre 3 e 4°C, seguida de centrifugação por 15 min. A reação foi conduzida utilizando alíquotas da solução de óleo (3 mL), que foram transferidas para um tubo de ensaio, seguido da adição de 1 mL da solução de DPPH.

Os tubos foram deixados em repouso no escuro por 60 min. A absorção do DPPH foi medida a 517 nm em um espectrofotômetro previamente calibrado com

metanol. Os resultados foram expressos como percentual de inibição, conforme a Equação 2.

$$\%I = \left(\frac{\text{Abranco} - \text{Aamostra}}{\text{Aamostra}} \right) * 100 \quad (2)$$

Em que o 'Abranco' é a leitura em absorvância no espectrofotômetro apenas com metanol e 'Aamostra' a absorvância da amostra.

4.2.4.2 Fenóis totais do OE's

A metodologia empregada foi a de Singleton e Rossi (1965). Inicialmente, foi realizado um método de extração, pesando-se 0,5 g de amostra e diluindo-a com 10 mL de metanol. A mistura foi colocada em um banho termostático a 25°C por 3 h, e o material resultante foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL, cujo volume foi completado com metanol. Em seguida, foi conduzido o procedimento de quantificação de fenóis totais por meio de uma reação colorimétrica.

Foi tomado 1 mL de extrato, ao qual foram adicionados 10 mL de água e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu. A mistura reagiu por 3 min, seguida da adição de 1,5 mL de carbonato de sódio a 20%, com tempo total de reação de 2 h.

A leitura da absorvância da amostra foi realizada em um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 765 nm, com calibração prévia do equipamento utilizando metanol. Para a quantificação de fenóis, foi elaborada uma curva padrão utilizando ácido gálico, conforme a Equação 3. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por 100 g de óleo.

$$y=0,0085x+0,025 \quad (3)$$

4.2.5 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de cravo-da-índia foi avaliada em relação a duas bactérias, a gram-positiva *Staphylococcus aureus* e a gram-negativa *Escherichia coli*. As cepas microbianas foram provenientes do laboratório de Microbiologia e Toxicologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA).

Para avaliar a eficácia do óleo essencial contra os microrganismos, foi utilizada a técnica de disco de difusão, conforme descrito por Fonte (2023). As culturas foram armazenadas em caldo BHI glicerinado em um ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para a reativação das culturas, foi realizada uma etapa de enriquecimento em BHI, seguida pela transferência para caldo Mueller Hinton (CMH), previamente preparado, a 36°C por 8 horas. A suspensão foi ajustada até alcançar uma turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, correspondendo a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Para garantir a confiabilidade, a suspensão de microrganismos foi quantificada utilizando um espectrofotômetro para medir a densidade óptica a um comprimento de onda de 625 nm, onde o valor deveria estar entre 0,08 e 0,1, correspondendo aproximadamente à escala de McFarland.

Para a realização do teste de sensibilidade a antimicrobianos, ágar Mueller-Hinton foi vertido em placas de Petri estéreis, formando uma camada de meio de cultura de aproximadamente 4 mm. Em seguida, o inóculo, padronizado a 0,5 na escala de McFarland, foi distribuído uniformemente na superfície da placa utilizando um swab estéril.

Para a realização do teste, foram utilizados discos brancos de papel filtro estéreis com 7 mm de diâmetro. Em cada placa de teste, foram colocados três discos, cada placa recebeu 10 μL de óleo essencial de cravo-da-índia, distribuído igualmente entre os três discos. Além disso, discos de controle positivo e negativo foram colocados no meio de cultura com uma pinça estéril, mantendo uma distância apropriada entre eles. Posteriormente, as placas contendo os testes foram incubadas em estufa bacteriológicas a temperatura de 36°C , por 24 horas, todos os testes foram realizados em duplicata.

A leitura foi feita com ajuda de um paquímetro digital e o resultado da medida em milímetros indicava se a cepa bacteriana é sensível (halo de inibição maiores que 8 mm), intermediário (6 - 8 mm) ou resistente (menor que 6 mm) ao óleo essencial, conforme demonstrado no Quadro 4.

Quadro 4- Classificação pelo diâmetro do halo de sensibilidade de diferentes óleos.

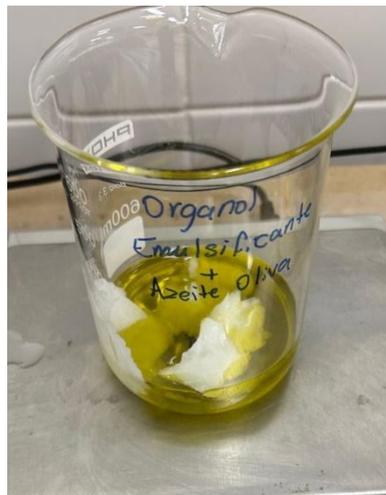
Sensibilidade	Halo (mm)
Não sensível (-)	Menor que 8
Sensível (+)	Entre 8-14
Muito sensível (++)	Entre 15-19
Extremamente sensível (+++)	Maior que 20

Fonte: Ponce, Fritz, Del Valle e Roura (2003)

4.2.6 Preparo do oleogel

O preparo do oleogel consistiu em adicionar uma porção da base lipídica, azeite de oliva e outra porção do agente estruturante, MAG. A formulação do oleogel foi preparada com 50 g de azeite de oliva e 50 g de emulsificante (Figura 9). Para formar a emulsão foi utilizado um mixer doméstico.

Figura 9- Ingredientes do oleogel antes da emulsão



Fonte: Autora (2024)

4.2.6.1 Avaliação da formação de gel

O oleogel foi analisado visualmente para verificar a possível ocorrência de instabilidade, como a separação de fases e a exsudação de óleo líquido na superfície.

Para padronizar a análise visual, a classificação das características observadas seguiu o descrito por Godói (2017), apresentado no Quadro 5.

Quadro 5- Classificação definida para análise visual dos oleogéis

Avaliação visual do oleogel	Classificação
Totalmente firme	5
Firme	4
Médio	3
Fraco	2
Totalmente líquido	1

Fonte: Godoi (2017)

Para ser classificado como totalmente líquido (1), o material deverá assemelhar-se a um óleo, fluindo facilmente quando o béquer for vertido ou submetido a força; para ser classificado como um gel fraco (2), o material deve apresentar uma viscosidade maior, com um escoamento mais lento quando o béquer é submetido a força ou vertido; para ser classificado como um gel médio (3), o material deve exibir características visuais de gel, mas com fácil escoamento quando o béquer é vertido ou submetido a força; para ser classificado como um gel firme (4), o material deve ter uma aparência visual de gel, sem escoamento quando o béquer é vertido, mas com um escoamento lento quando submetido a força (ao ser virado para baixo, uma força é aplicada com cinco pequenos golpes no béquer em direção à superfície de apoio); para ser classificado como um gel totalmente firme (5), o material não deve apresentar escoamento quando o béquer é vertido nem quando é submetido a força (GODOI, 2017).

4.2.7 Preparo do pão

Foram elaborados pães de forma com diferentes formulações, como consta no Quadro 6.

Quadro 6 – Formulações dos pães

Pão	Distinção
1	Formulação padrão
2	Substituição total da gordura vegetal por 6g de oleogel
3	Substituição da gordura vegetal por 6g oleogel + 1mL de OE's
4	6g de gordura vegetal + 1mL de OEs

Fonte: Autora (2024)

Inicialmente, todos os ingredientes foram cuidadosamente pesados em uma balança, seguindo as quantidades especificadas no Quadro 7. Em seguida, os ingredientes secos foram combinados em um recipiente higienizado junto com a gordura. A água foi adicionada gradualmente, enquanto os ingredientes foram homogeneizados manualmente até formar uma massa uniforme que não grudasse nas mãos.

A massa foi então sovada por 5 min. Posteriormente, foi colocada em fôrmas de alumínio e deixada para fermentar em uma estufa a $\pm 35^{\circ}\text{C}$ por 30 min. Após a fermentação, o pão foi assado a 180°C por 35 min.

Para preparar os pães com as substituições, utilizou-se oleogel no lugar da gordura vegetal, mantendo-se a mesma quantidade da receita padrão, ou seja, 6g. Além disso, adicionou-se 1 mL de OE's. Em seguida, o processo continuou conforme descrito na metodologia padrão.

Quadro 7– Ingredientes do pão de forma controle

Ingredientes	Quantidades
Farinha	300g
Fermento biológico seco	6g
Açúcar	15g
Sal	4,5g
Gordura vegetal hidrogenada	18g
Água	180 mL

Fonte: Autora (2024)

4.2.8 Análises físico-químicas

Foram determinados o teor de umidade e atividade de água presente nos pães para comparar com os valores presentes em literaturas para esse produto. As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008), com modificações.

4.2.8.1 Teor de umidade dos pães

Para determinar o teor de umidade dos pães, placas de Petri foram inicialmente colocadas para secar em uma estufa convencional a 105°C por 4 h. Após esse período, as placas foram retiradas da estufa e transferidas para um dessecador por 30 min. As placas foram pesadas quando estiverem frias, utilizando uma balança semianalítica. Subsequentemente, aproximadamente 1 g da amostra foram pesados em cada placa de Petri, e as amostras foram colocadas na estufa a 105°C até que atingissem peso constante. O teor de umidade foi calculado utilizando a Equação 4.

$$\%U = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100 \quad (4)$$

Onde: %U é a porcentagem de umidade do pão, M_i é a massa inicial do pão e M_f é a massa do pão seco.

4.2.8.2 Determinação da atividade de água dos pães

A atividade de água foi determinada em um equipamento LabTouch. Inicialmente, o equipamento foi calibrado de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, uma pequena quantidade das amostras foi adicionada a um recipiente de amostragem plástico, que foi inserido no equipamento para realizar a leitura, obtendo-se um valor expresso em porcentagem.

4.2.9 Análises espectrofotométricas dos pães

As análises de atividade antioxidante e fenóis totais dos pães produzidos foram realizadas de acordo com o item 4.2.4 com adaptações para o material a ser analisado.

4.2.10 Análise visual do desenvolvimento de bolores nos pães

Após o preparo das 4 diferentes formulações dos pães, eles foram fatiados e embalados em plástico filme e armazenados em uma caixa plástica transparente para serem avaliados diariamente durante 15 dias. Essa análise teve como objetivo observar o crescimento de bolores nos diferentes pães e saber em quantos dias ocorre esse crescimento microbiológico.

4.3 Análise estatística

Os resultados obtidos foram expressos em médias e desvio padrão referentes às formulações realizadas em triplicata. foi realizada a análise de variância (ANOVA) e teste tukey ($p < 0,05$) para comparação das médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas do OE

5.1.1 Rendimento

Foram utilizados cerca de 100g de cravo-da-índia moído, resultando em um volume final de 6,5 mL de óleo essencial, totalizando um rendimento de 5,96%. Segundo Gomes *et al.* (2017), o óleo essencial de cravo-da-índia apresenta odor característico, aspecto límpido, coloração transparente e obtiveram um rendimento de 3,54%, inferior ao do presente trabalho. Corrêa (2023) obteve 4,99% de óleo essencial por hidrodestilação, descartando o método de destilação por arraste a vapor devido ao rendimento não significativo.

Silva *et al.* (2014) desenvolveram uma metodologia de arraste a vapor para a extração de óleos essenciais de cravo-da-índia, utilizando 226 g da matriz vegetal, resultando em um rendimento final de extração de 15,93 $\mu\text{L/g}$. Este rendimento é considerado extremamente baixo especialmente ao se considerar a quantidade de cravo empregada e o resultado final obtido.

No entanto, esse autor utilizou uma técnica similar à hidrodestilação, adaptando o método de arraste a vapor ao imergir o material moído em água. Com isso, obteve um rendimento positivo, o que sugere uma alternativa viável para a indústria.

5.1.2 Análise de pH

O pH do óleo essencial extraído foi 5,0, sendo considerado levemente ácido. Pouco se encontra sobre o pH do óleo essencial de cravo-da-índia na literatura. Porém, Oliveira e colaboradores (2014) também encontraram pH 5,0 para o óleo essencial de cravo-da-Índia.

5.2. Análises fitoquímicas

5.2.1. Atividade antioxidante

Os resultados obtidos a partir determinação da atividade antioxidante dos três óleos essenciais extraídos A, B e C, estão demonstrados na Tabela 1, em que os OE's

A foi analisado 60 dias após a extração, B foi analisado 15 dias após sua extração e o C analisado 1 dia após sua extração.

Tabela 1- Atividade antioxidante dos OE's

OE's	Capacidade de inibição frente ao DPPH (%)	Atividade antioxidante ($\mu\text{mol Trolox /g}$ de amostra)
A	90,09 \pm 0,169 ^a	67,70 \pm 0,06 ^a
B	90,49 \pm 0,196 ^a	67,86 \pm 0,19 ^a
C	91,17 \pm 0,277 ^a	68,13 \pm 0,11 ^a

Médias \pm Desvio padrão acompanhados de letras minúsculas iguais na coluna não representam diferenças estatísticas para teste de Tukey ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2024)

Percebe-se que, apesar das extrações terem sido feitas com uma diferença de até 60 dias. As concentrações mantiveram-se iguais, de acordo com a análise estatística, demonstrando que, quando armazenados em ambiente escuro e a uma temperatura mínima de -5°C , suas propriedades antioxidantes não se modificam significativamente.

Silvestri e colaboradores em 2010 encontraram o valor de 95,6% de capacidade inibitória frente ao DPPH para a concentração de $10000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo assim, os OE's extraídos estão dentro do encontrado na literatura.

5.2.2. Fenóis totais

Os compostos fenólicos encontrados no presente trabalho para as extrações nos dias 1, 45 e 60 foram de $63,38 \text{ gEAGmg}^{-1}$, $68,05 \text{ gEAGmg}^{-1}$ e $55,97 \text{ gEAGmg}^{-1}$ respectivamente, resultados esperados visto que a atividade antioxidante dos mesmos também foi elevada. Os compostos fenólicos empregados neste estudo serviram como parâmetro de equivalência de atividade antioxidante dos óleos extraídos.

Os compostos fenólicos têm ação antioxidante, retardando ou prevenindo o processo de oxidação. Eles são amplamente utilizados pela indústria alimentícia, pois

a oxidação dos lipídios nos alimentos pode formar compostos indesejáveis, além de gerar sabores e odores desagradáveis (BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995).

5.3 Atividade antimicrobiana

Para a capacidade antimicrobiana do óleo essencial de cravo-da-Índia da extração C foi testado a sua capacidade de formação de halos inibitórios frente a duas bactérias, a gram-positiva *Staphylococcus aureus* e a gram-negativa *Escherichia coli*, onde os resultados foram expressos em milímetros (mm), conforme a Tabela 2.

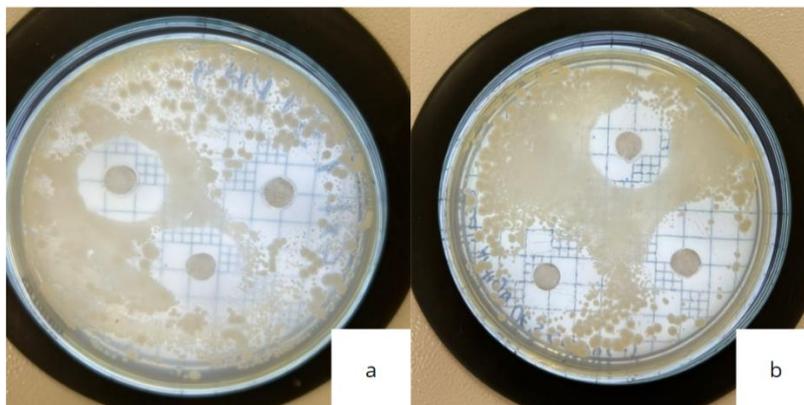
Tabela 2- Halo de inibição frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli*

Bactéria	inibição (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	22,35 ± 0,44
<i>Escherichia coli</i>	20,57 ± 0,02

Fonte: Autora (2024)

Foi constatado que o óleo essencial apresentou atividade antimicrobiana utilizando 10 µL OE's por placa contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, visto que os halos de inibição foram superiores a 8 mm, figura 10.

Figura 10- Halo de inibição utilizando a técnica de disco de difusão



a - represente *Staphylococcus aureus* e b - representa *Escherichia coli*

Fonte: Autora (2024)

Silvestri e colaboradores (2010), encontraram halos de inibição de 32,00 mm para *Staphylococcus aureus* e halo de 19,75 mm para *Escherichia coli*, ambos utilizando 10 µL de concentração de óleos essenciais.

Rodella, em 2015, encontrou halos de inibição de 14 mm para ambas as bactérias. Sendo assim, o óleo essencial do presente estudo demonstrou inibir o crescimento das duas bactérias estudadas, segundo os autores Ponce, Fritz, Del Valle, & Roura, (2003) pode-se dizer que ambas as bactérias apresentaram-se extremamente sensíveis (+++) frente ao OE de cravo da Índia. Estudos indicam que o potencial antimicrobiano do cravo-da-Índia é atribuído principalmente à ação do eugenol. O eugenol impede a produção de amilase e proteínas pelas células, levando à sua lise e degradação (Xu *et al.* 2016).

5.4 Avaliação da formação de gel

O oleogel foi preparado com uma proporção de 1:1 conforme descrito no item 4.2.6. Pode-se observar que o oleogel teve uma estabilidade classificada como 5 (Godoi, 2017), o material se manteve sólido sem apresentar escoamento, como apresentado na figura 11 percebe-se a estabilidade do mesmo. Tornando-se uma excelente alternativa para a substituição da gordura vegetal hidrogenada, o oleogel apresenta características físicas semelhantes e cumpre seu papel nas substituições realizadas nos pães.

Figura 11 - Avaliação visual da formação de gel no oleogel



Fonte: Autora (2024)

5.5 Preparo do pão

O pão foi formulado conforme o descrito no item 4.2.7, pode-se observar que os pães não apresentam diferenças no preparo da massa e após serem assados, quanto a características de estrutura e cor também foram semelhantes ao padrão (Figura 12).

Correia (2019) investigou a substituição do óleo de palma na produção industrial de alimentos, considerando o oleogel como uma das alternativas, este estudo avaliou diferentes substituições de gordura convencional, incluindo o uso de oleogel. O autor destacou que a incorporação de monoglicérides (MG) promoveu uma distribuição de gordura mais uniforme em comparação com o produto padrão.

Além disso, o uso de oleogel resultou em pães com maior volume específico e uma textura mais macia. O oleogel, por sua vez, produziu pães com características de qualidade comparáveis às da amostra controle feita com óleo de palma.

Figura 12 - Pães assados com diferentes formulações



Fonte: Autora (2024)

5.6. Análises físico-químicas do pão

5.6.1 Teor de umidade

O teor de umidade das diferentes formulações de pães está representado no Quadro 8 a seguir:

Quadro 8 - Teor de umidade dos pães

Formulação	Umidade (%)
Pão 1	39,51±0,91a
Pão 2	30,31±0,30b
Pão 3	29,34±0,90b
Pão 4	40,47±0,23a

Médias±Desvio padrão acompanhados de letras minúsculas diferentes na coluna representam diferenças estatísticas para teste de Tukey ao nível de 5% ($p < 0,05$)

Fonte: Autora (2024)

Nas formulações 1 e 4, utilizou-se gordura vegetal e pode-se observar que tiveram umidade semelhante ($39,50\% \pm 0,91$) e ($40,47\% \pm 0,22$), respectivamente, já os pães utilizando oleogel, formulações 2 e 3, apresentaram uma umidade menor ($30,31\% \pm 0,30$) e ($29,34 \pm 0,89$), respectivamente.

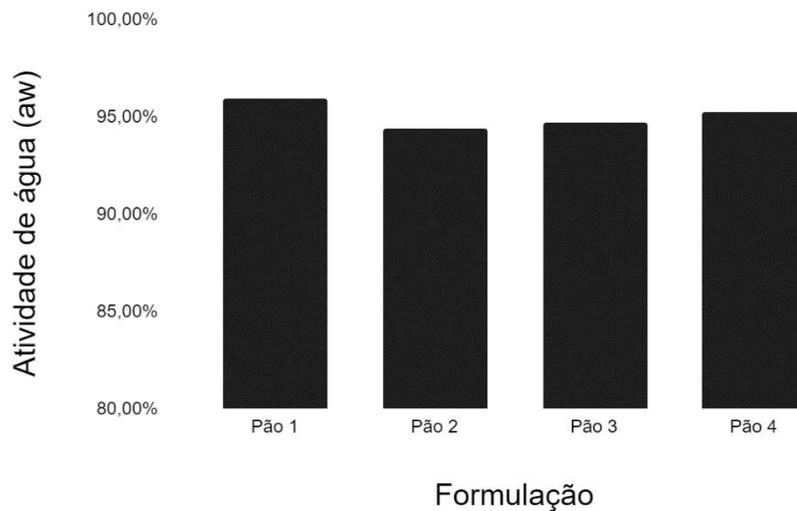
Borges (2018), analisou diversos pães comerciais e encontrou umidade de até 36,68% em pães tradicionais. Kim e colaboradores (2024) estudaram desenvolvimento e substituição de gordura à base de oleogel e sua aplicação na fabricação de pão e encontraram umidade de $33,50 \pm 0,26$ para pães com 100% de substituição por oleogel, $33,63 \pm 0,43$ para substituição de 50% e para o pão padrão encontrou umidade maior do que os com oleogel $35,26 \pm 0,29$.

Visto que a umidade está diretamente relacionada à proliferação de microrganismos, a utilização de oleogel, bem como a combinação com o OE de cravo da Índia, se mostra uma alternativa interessante para a aplicação em produtos de panificação.

5.6.2 Determinação da atividade de água

A atividade de água encontrado no presente trabalho para as 4 formulações de pães estão apresentados a seguir a maior umidade foi na formulação padrão ($0,96 \pm 0,00$) observa-se que nas outras formulações não houve mudança significativa. A atividade de água alta favorece o crescimento de microrganismos no alimento, com isso é essencial a utilização de conservantes (figura 13).

Figura 13- Atividade de água das formulações dos pães.



Fonte: Autora (2024)

Malvano e colaboradores (2022) encontraram uma atividade de água de ($0,84 \pm 0,02$) para bolo com substituição de gordura por oleogel à base de azeite de oliva, uma diferença significativa em relação aos resultados encontrados no presente trabalho.

Essa diferença pode ser justificada pelo fato de que as amostras analisadas no presente estudo foram armazenadas em freezer, o que pode alterar a umidade do produto, além da formulação de ambos produtos que contém ingredientes diferentes e podem ocasionar diferenças na Aw. Malvano e colaboradores também observaram que a presença de emulsificantes diminuiu a atividade de água.

Os emulsificantes ajudam a distribuir uniformemente a água na massa, formando micelas que encapsulam a água, tornando-a menos disponível.

5.7. Análises espectrofotométricas dos pães

5.7.1 Atividade antioxidante

As atividades antioxidantes das diferentes formulações estão descritas na tabela 3, os pães foram preparados com o óleo essencial da última extração.

Tabela 3- Capacidade de inibição ao DPPH em % dos pães nas diferentes formulações

Pão	Capacidade de inibição frente ao DPPH (%)
1	7,22 ± 1,42 ^a
2	3,75 ± 0,38 ^b
3	66,42 ± 0,65 ^c
4	66,69 ± 0,90 ^c

Médias±Desvio padrão acompanhados de letras minúsculas diferentes na coluna representam diferenças estatísticas para teste de Tukey ao nível de 5% (p<0,05)

Fonte: Autora (2024)

Os resultados encontrados nos pães 1 e 2 expressaram uma baixa capacidade de inibição, 7,22% e 3,75%, respectivamente, sendo estes os pães sem a presença de óleo essencial na sua formulação. Os pães com maior atividade antioxidante são aqueles que contêm OE em sua formulação.

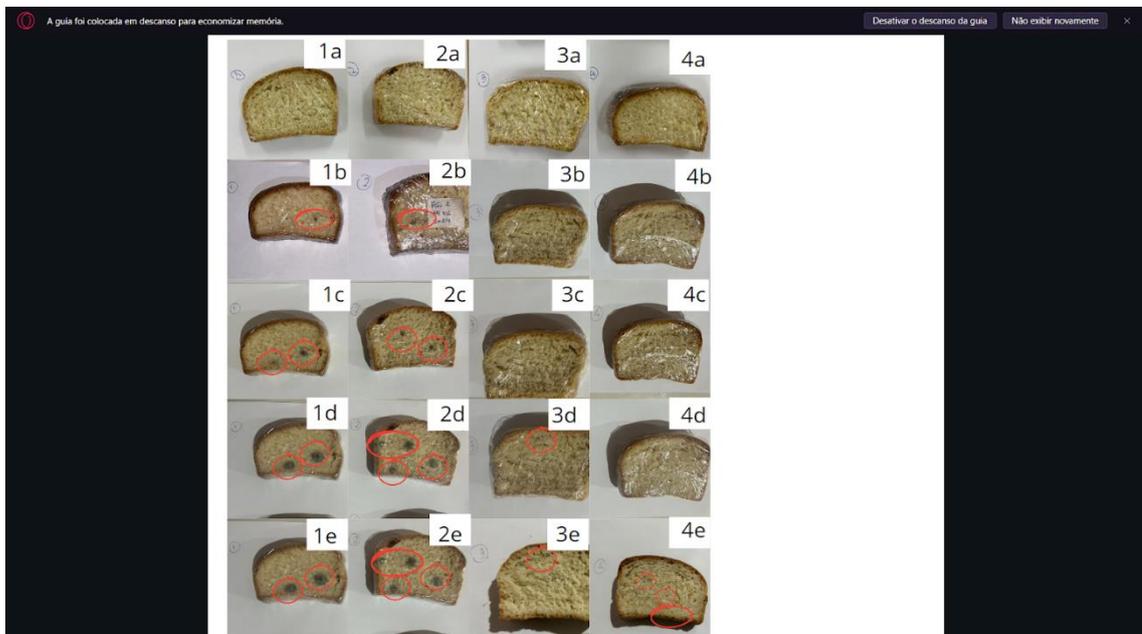
Apesar do OE de cravo-da-índia estar diluído e o pão passar pelo processo de cocção ainda apresenta atividade antioxidante significativa de 66,42% e 66,69% nos pães 3 e 4, respectivamente. Considerando a diferença relevante na atividade antioxidante entre o pão controle e os pães com óleo essencial de cravo-da-índia, a presença deste óleo essencial pode ser uma alternativa eficaz aos antioxidantes sintéticos que possuem efeitos nocivos, sendo considerado um excelente conservante natural.

5.8 Análise visual dos pães

Esta análise foi conduzida conforme o item 4.2.10. Os pães foram analisados diariamente durante um período de 15 dias, com o crescimento de microrganismos sendo registrado por meio de fotografias. Inicialmente, todos os pães estavam íntegros e sem qualquer crescimento de fungos. No quinto dia de observação, foi possível ver o início do crescimento de microrganismos nos pães das formulações 1 e 2, que não continham óleo essencial em sua composição.

Com o passar dos dias, observou-se a expansão desses microrganismos e o surgimento de novos. Apenas no décimo dia, o pão da formulação 3 apresentou o início do crescimento de microrganismos, e no décimo quinto dia, foi observada a presença de microrganismos no pão da formulação 4. Apesar da presença de microrganismos em todas as formulações, nota-se que houve um aumento da vida útil dos pães com óleos essenciais em sua composição (figura 14).

Figura 14 - Observação dos pães no período de 15 dias, destacando os dias que apresentou mudança no estado físico.



Fonte: Autora (2024)

Os números representam as formulações dos pães e as letras dos dias das fotos (a - dia 1, b- dia 5, c- dia 8, d-dia 12 e e-dia 15). O crescimento de fungos depende de diversas variáveis, como as condições ambientais (temperatura e umidade) e as práticas de fabricação utilizadas durante o processamento.

O método escolhido para analisar o crescimento fúngico permite a comparação visual entre diferentes formulações produzidas sob as mesmas condições ambientais e de processamento. De acordo com Tortora (2000), bolores são fungos que se distinguem pela formação de uma massa de longos filamentos chamada micélio, que se ramificam e se expandem.

Rossatto (2018), ao avaliar o potencial antifúngico de microcápsulas contendo óleo essencial de orégano em pães de forma, observou a presença de fungos e bolores no sétimo dia de estudos. Isso indica que o óleo essencial de cravo-da-índia pode ser mais eficiente como conservante em pães, quando comparado ao óleo de orégano deste estudo.

Embora existam vários métodos descritos na literatura para medir a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, a falta de padronização desses métodos dificulta a comparação entre os estudos e compromete a sua reprodutibilidade (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

Com isso, percebe-se que a utilização do conservante natural de óleo essencial de cravo-da-índia mostrou-se promissora para possível substituição em produtos de panificação, prolongando significativamente a sua vida útil.

6 CONCLUSÃO

A partir do presente trabalho, observou-se que a extração do óleo essencial do cravo da Índia por hidrodestilação com adaptações foi eficiente em termos de rendimento. O óleo essencial apresentou ótima capacidade antimicrobiana e, conseqüentemente, uma boa inibição para os microrganismos testados.

Tais resultados comprovam a eficiência deste óleo essencial como uma alternativa aos conservantes sintéticos, bem como, adicionam atividade antioxidante em produtos de panificação. Pode-se observar que o potencial antioxidante do óleo essencial no pão diminuiu, se compararmos com o OE's puro, porém ainda manteve uma atividade antioxidante relevante.

Além disso, vale ressaltar que muitos estudos ainda devem ser realizados, especialmente no que diz respeito à viabilidade de seu uso e à toxicidade. No entanto, o presente trabalho demonstra que essa abordagem é promissora.

Quanto ao uso do oleogel na substituição da gordura vegetal hidrogenada, pode-se constatar que ele é um excelente substituto para pães, pois preservou as características físicas do produto.

A proporção adequada de base lipídica e emulsificante resultou em uma textura firme, semelhante a gordura substituída. Esta substituição se torna promissora por ser mais saudável em relação às gorduras hidrogenadas, que contêm gorduras trans, não recomendadas para consumo elevado.

Com a análise visual dos pães, constatou-se que o óleo essencial de cravo-da-Índia teve um impacto significativo na conservação, prolongando a vida útil em 7 dias em comparação com os pães sem esse conservante. Isso sugere que o óleo essencial pode ser uma opção promissora na indústria de alimentos, além de ser um conservante natural.

REFERÊNCIAS

- ABDULMUMEEN, H. A. *et al.* Food: Its preservatives, additives and applications. **International Journal of Chemical and Biochemical Sciences**, v. 1, p. 36-47, 2012. Disponível em: <https://www.iscientific.org/wp-content/uploads/2018/02/8-IJCBS-12-1-18.pdf> Acesso em: 03 de out. de 2023. Acesso em: 03 de out. de 2023.
- ABIMAPI. Associação Brasileira Das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães A& Bolos Industrializados. **Anuário 2020**, p.14. Disponível em: <https://ital.agricultura.sp.gov.br/massas/14/> Acesso em 20 de out. de 2023.
- ABIP - Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria. 2021. **O mercado da panificação e a pandemia**. Disponível em: <https://www.abip.org.br/site/o-mercado-da-panificacao-e-a-pandemia/>. Acesso em: 12 de set. de 2023.
- ABIP - Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria. 2023. **16 de outubro, Dia Mundial do Pão**. Disponível em: <https://www.abip.org.br/site/16-de-outubro-dia-mundial-do-pao/>. Acesso em: 13 de set. de 2023.
- AFFONSO, R. S. *et al.* Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/download/254/234> Acesso em: 15 de nov. de 2023.
- ANVISA, **Informe nº 40 de 2009**. Esclarecimentos sobre o uso de edulcorante ciclamato em alimentos. 2009. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes/copy_of_41de2009 Acesso em: 6 de out. de 2023.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Publicada no Diário Oficial da União (DOU) nº 184, de 23 de setembro de 2005.
- ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia). **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 20, jun. 2013. Disponível em: <http://cajapio.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/1769> Acesso em: 19 de nov. de 2023.
- BARROS, P. R. *et al.* Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*). **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacéuticas**, v. 47, n. 1, p. 37-52, 2018.
- BAŞER, K. H. C.; DEMIRCI, F. Chemistry of essential oils. In: **Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability**. New York: Springer, p. 43-86, 2007. Disponível em: <https://pharmacy.hebmu.edu.cn/trywhx/resources/43/2019610164855.pdf> Acesso em 15 de nov. de 2023.

BENASSI, V. T.; WATANABE, E. **Fundamentos da tecnologia de panificação**. 21. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA - CTAA, 1997. 60 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/65467/1/CTAA-DOCUMENTOS-21-FUNDAMENTOS-DA-TECNOLOGIA-DE-PANIFICACAO-LV-2004-00274.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2023.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/QwJBsdNzGmZSq4jKmhWVDnJ/?lang=pt> Acesso em: 14 de novembro de 2023.

BORGES, M. V.; BORGES, R. B. R. **Perfil de textura de marcas comerciais de pães de forma tradicional e integral**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/72/o/TCC_-_BB_FINAL_IMPRESS%C3%83O.pdf. Acesso em: 12 jun. 2024

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.-E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643895800085> Acesso em: 19 de nov. de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 2, de 15 de janeiro de 2007**. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes. Brasília, DF: Anvisa; 2007. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0002_15_01_2007.html Acesso em: 14 de nov. de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 45, de 03 de novembro de 2010**. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF) Brasília, DF: Anvisa; 2010. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/rdc0045_03_11_2010.html Acesso em: 14 de nov. de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 332, de 23 de dezembro de 2019**. Define os requisitos para o uso de gorduras trans industriais em alimentos. Brasília, DF: Anvisa; 2007. Disponível em: https://cvs.saude.sp.gov.br/zip/U_RS-MS-ANVISA-RDC-332_231219.pdf Acesso em: 17 de nov. de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa – in nº 161, de 1º de julho de 2022**. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos Brasília, DF: Anvisa; 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880> Acesso em: 20 de nov. de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**. Aprova o Regulamento Técnico: aditivos alimentares – definições, classificação e emprego. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Poder Executivo, 1997. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1/1997/prt0540_27_10_1997.html Acesso em: 21 de out. de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC N° 90, de 18 de outubro de 2000**. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de identidade e de pão. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 19 de outubro de 2000. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0090_18_10_2000.html. Acesso em: 12 de set. de 2023.

BUSATO, N. V. *et al.* Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1574-1582, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/gvHbsFT68gFVPfBksDYYhnL/?lang=pt> Acesso em: 17 de nov. de 2023

CAETANO, K. F. *et al.* **Pão de forma elaborado com substituição parcial de farinha do resíduo de acerola**. In: Simpósio internacional de métodos avançados em ciência e tecnologia de alimentos (SIMEALI), 1., 2023, Goiânia. Anais [...]. Goiânia: UFG, 2023. P. 61. Disponível em: https://www.simeali.com/_files/ugd/c971a0_d3d395f110f74440bef34fb917c65dd8.pdf#page=61. Acesso em: 25 jun. 2024.

CAROCHO, M. *et al.* Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. **Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 377–399, 2014. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1541-4337.12065> Acesso em: 4 nov. 2023

CARRILLO, M. L.; ZAVALA, D.; ALVARADO, B. Modelado del efecto de la temperatura, actividad de agua y pH sobre el crecimiento de *Rhizopus oryzae*. **Información Tecnológica**, v. 18, n. 4, p. 57-62, 2007. Disponível em: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642007000400009&script=sci_arttext&lng=pt. Acesso em: 4 nov. 2023.

CHIN, N. L. *et al.* Palm oil shortening effects on baking performance of white bread. **Journal of Food Process Engineering**, ano 2010, v. 33, n. 3, p. 413-433, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4530.2008.00282.x>. Acesso em: 24 out. 2023.

CINELLI, G.; COFELICE, M.; VENDITTI, F. Veiled extra virgin olive oils: Role of emulsion, water and antioxidants. **Colloids and Interfaces**, v. 4, n. 3, p. 38, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2504-5377/4/3/38/pdf> Acesso em: 19 de nov. de 2023.

CLEVENGER, J. Apparatus for the determination of volatile oil. **The Journal of the American Pharmaceutical Association** (1912), v. 17, n. 4, p. 345–349, 1928. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898140X15365782>. Acesso em: 17 de nov. 2023.

COLLA, K.; COSTANZO, A.; GAMLATH, S. Fat replacers in baked food products. **Foods**, v. 7, n. 12, p. 192, 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/7/12/192/pdf> Acesso em: 17 de nov. de 2023.

CORRÊA, O. B.; MELO, A. R.; MARQUES, C. R. M. ANÁLISE DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*). **Revista Vincici-Periódico Científico do UniSATC**, v. 8, n. 2, p. 261-281, 2023.

CORREIA, D. F. **Substituição do óleo de palma na produção industrial de alimentos**. 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar) – Universidade do Porto, Porto, 2019. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/121650/2/344671.pdf>. Acesso em: 9 jun. 2024.

CUNHA, A. O. **Cadeia produtiva do pão**: fontes informacionais utilizadas no planejamento de novos produtos. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biblioteconomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. DOI <http://hdl.handle.net/10183/54255>. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/54255>. Acesso em: 5 nov. 2023.

DA SILVA, R. N. R.; MARQUES, C. A. T.; CONSTANT, P. B. L. Uso de conservantes naturais em alimentos: Um referencial teórico. **Ciência & Tecnologia de alimentos**, [s. l.], v. 2, p. 775/786, 2021. Disponível em: <https://www.editoracientifica.com.br/artigos/uso-de-conservantes-naturais-em-alimentos-um-referencial-teorico>. Acesso em: 19 nov. 2023.

DA SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher, 2017. Disponível em: <https://pergamum.unipampa.edu.br/acervo/5038626> Acesso em 20 de nov. de 2023.

DANNENBERG, G. S. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 36, p. 120-127, 2016. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S146685641630114X?casa_token=IuvRrneJ7-EAAAAA:w73ERRap3rddy9CEHzefcOGw8wCdfJaeonrHLsp-kjC1Rfy1ToS-iyLUJD9boaRVP-6JbutauH8-dg Acesso em: 19 de nov. de 2023.

DELRE, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: Aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 389–399, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/pDztw6sV5YYJCDSKPJJjFTP/abstract/?lang=pt> Acesso em: 18 de nov. de 2023.

DIAS, C. N. *et al.* **Avaliação da atividade larvicida em *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) de óleos essenciais de espécies vegetais**: um estudo de revisão e bioprospecção. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente), Universidade Federal do Maranhão, São Luís - Maranhão, 2013. Disponível em: <http://tedebc.ufma.br:8080/jspui/bitstream/tede/1620/2/ClariceDias.pdf> Acesso em: 17 de nov. de 2023.

EFSA- European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the re-evaluation of sorbic acid (E 200), potassium sorbate (E 202) and calcium sorbate (E 203) as food additives. **EFSA Journal**, v. 13, n. 6, p. 4144, 2015. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2015.4144> Acesso em: 02 de out. de 2023.

ESTELLER, M. S. **Fabricação de pães com reduzido teor calórico e modificações reológicas ocorridas durante o armazenamento**. 2004. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/44c5/ff0a85d48e1c7ae798c3ef7690cb54338eff.pdf>. Acesso em: 6 nov. 2023.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017. Disponível em: http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc39_2/04-QS-09-16.pdf Acesso em: 15 de nov. de 2023

FERNANDES, H. C. P. **Extração do óleo essencial da casca da laranja**. 2012. 46p. Trabalho de conclusão de Curso (Química Industrial) – Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA/Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

FERRAND, C. *et al.* Mutagenicity and genotoxicity of sorbic acid-amine reaction products. **Toxicol In Vitro**. v. 14, p. 423-428, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0887233300000357> Acesso em: 22 de set. de 2023.

FONTES, M. R. V. *et al.* Antimicrobial properties of PLA membranes loaded with pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil applied in simulated cream cheese packaging. **Food Biophysics**, v. 18, n. 1, p. 107-119, 2023. Disponível em: https://idp.springer.com/authorize/casaredirect_uri=https://link.springer.com/article/10.1007/s11483-022-09750-x&casa_token=Fpq0HRnuwm4AAAAA:DlytY6Ge9F2I4_N1I3FRKbnwbF-qHYJkY5UppwWyxXyQCImIFGqFXoX9FPiNf7GxMuAnxwQali7B-Clyv0 Acesso em: 20 de nov. de 2023.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia de segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 620 p. v. 1. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5698538/mod_resource/content/1/Microbiologia%20da%20Seguranca%20dos%20Alimentos%20-%20Stephen%20J.pdf. Acesso em: 7 nov. 2023.

FREIRE, F. C. O. A. **A deterioração fúngica de produtos de panificação no Brasil**. Comunicado Técnico, 174, 1ª Ed. On-line, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/907492/1/COT11010.pdf>. Acesso em: 12 de set. de 2023.

FREITAS, L. *et al.* Monoglicerídeos: produção por via enzimática e algumas aplicações. **Química Nova**, v. 31, p. 1514-1521, 2008. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/4DmnSKmCbj4tnp98s66QQtJ/?lang=pt> Acesso em: 19 de nov. de 2023.

GARCIA-OLIVEIRA, P. *et al.* Evolution of flavors in extra virgin olive oil shelf-life. **Antioxidants**, v. 10, n. 3, p. 368, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/3/368/pdf> Acesso em: 19 de nov. de 2023.

GODOI, K. R. R. **Desenvolvimento e caracterização de organogéis a partir de óleo de soja com diferentes estruturantes lipídicos**. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2017. Disponível em: <https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/984389> Acesso em: 20 de nov. de 2023.

GOMES, F. **Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de microextração em fase sólida (SPME), hidrodestilação e extração com fluido supercrítico (SFE)**. 2003.

HONORATO, T.C *et al.* **Aditivos Alimentares: aplicações e toxicologia**. Revista Verde. Mossoró, RN, 2013. Disponível em: <https://gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/viewFile/1950/2105> Acesso em: 28 de set. de 2023.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores: Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet, Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf Acesso em: 15 mai. 2024

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL, **Olive Oil**, 2023 Disponível em: <https://www.internationaloliveoil.org/olive-world/olive-oil/> Acesso em: 19 de nov. de 2023.

JÚNIOR, F. G. *et al.* Extração de óleos essenciais e verificação da atividade antifúngica. **Revista Argumento**, v. 8, n. 14, p. 49-65, 2006. Disponível em: <https://revistas.anchieta.br/index.php/revistaargumento/article/download/629/543> Acesso em: 20 de set. de 2023.

KIM, J. Y. *Development of Oleogel-Based Fat Replacer and Its Application in Pan Bread Making*. *Foods*, v. 13, n. 11, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods13111678>. Acesso em: 9 jun. 2024.

KUMARI, P. K. *et al.* Alternative to artificial preservatives. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 10, p. 99-102, 2019. Disponível em: <https://www.sysrevpharm.org/articles/alternative-to-artificial-preservatives.pdf> Acesso em: 10 de nov. de 2023.

LEE, S. *et al.* Utilization of foam structured hydroxypropyl methylcellulose for oleogels and their application as a solid fat replacer in muffins. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 796-802, 2018. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X17314789?casa_token=usTs4SyRj_4AAAAA:ohYt4lroaM1rTZJFRbv9UK9xNeoj-

sWyXo__M4tSv05gzdxQg8vVu-rarAPuVelGD6gWEZecpO_plQ Acesso em: 18 de nov. de 2023.

LUPI, F. R. *et al.* The effects of intermolecular interactions on the physical properties of organogels in edible oils. **Journal of colloid and interface science**, v. 483, p. 154-164, 2016. Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979716305641?casa_token=3TYmiMaDIbwAAAAA:R9KenxSqjC2iVy8f77La8cn1iKQ7CinIs62DBC6cpFGJmA49gsGWA9m0MzeYHCaY383YBcgHJsXvsQ Acesso em: 19 de nov. de 2023.

LUTZ, A. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos para análise de alimentos.** São Paulo, v. 4, 2008. Disponível em:
<https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf> Acesso em 129 de nov. de 2023.

MAEDA, J.A. *et al.* Craveiro-da-índia: características físicas das sementes e seus efeitos na germinação e desenvolvimento vegetativo. **Bragantia**, v. 49, p. 23-36, 1990. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/brag/a/XT5ByJYzF9z5hTzGsTxpTPF/?lang=pt> Acesso em: 16 de nov. de 2023.

MAIA, T. F.; DONATO, A.; FRAGA, M. E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.
 Disponível em:
<https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/36689> Acesso em: 16 de nov. de 2023.

MALVANO, Francesca *et al.* Olive oil-based oleogel as fat replacer in a sponge cake: A comparative study and optimization. **Foods**, v. 11, n. 17, p. 2643, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/pjSFydVRNTHtVw48qPPmZQN/?lang=pt> Acesso em: 30 jun. 2024.

MARANGONI, A. L. **Pão de forma" zero trans": estudo do efeito de diferentes óleos e gorduras na qualidade tecnológica dos pães complementar** Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 2014. Disponível em:
<https://repositorio.unicamp.br/Busca/Download?codigoArquivo=462972> Acesso em: 12 de set. de 2023.

MARGETTS, J. *et al.* Aroma chemicals V: natural aroma chemicals. **Chemistry and technology of flavors and fragrances**, p. 169-198, 2005. Disponível em:
<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=c551b924bee15044240dc3a4985a1450dbd401cf#page=184> Acesso em 15 de nov. de 2023.

MARÍN, S. *et al.* Efficacy of sorbates on the control of the growth of Eurotium species in bakery products with near neutral pH. **International Journal os Food Microbiology**. v.87 p. 251-258, 2003. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160503000680> Acesso em: 03 de out. de 2023.

MARTIN, C. A. *et al.* Trans fatty acid content of Brazilian biscuits. **Food chemistry**, v. 93, n. 3, p. 445-448, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.022>. Acesso em: 12 de set. de 2023.

MARTINS, A. J. *et al.* Edible oleogels: An opportunity for fat replacement in foods. **Food & function**, v. 9, n. 2, p. 758-773, 2018. Disponível em: https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/fo/c7fo01641g?casa_token=Y5yBO-GcfOEAAAAA:zOgKjjniNmX6imWpPh2H6o1SWSwjHyBYJ5OqVNkA7TMf_yybSgpWAaNQViBH7Oc0gGan7PrA0ge87fPm Acesso em: 18 de nov. de 2023.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Brazilian Journal of Botany**, v. 26, p. 231-238, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbb/a/xXY8YPPy5GjYpvQ3HwTrGKL/> Acesso em: 16 de nov. de 2023.

MORO, C. B. **Sensibilidade de fungos deteriorantes de produtos de panificação à conservantes**. 2019. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/19022>. Acesso em: 1 out. 2023.

MOTA, E. B. F. da. **Atuação de extratos naturais com efeito antimicrobiano sobre a conservação de pães do tipo integral**. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6138/tde-10102018-081024/publico/EmilyBezerraFernandesdaMora_MTR_REVISADA.pdf Acesso em 04 de nov. de 2023.

MOZAFFARIAN, D. Trans fatty acids—effects on systemic inflammation and endothelial function. **Atherosclerosis Supplements**, v. 7, n. 2, p. 29-32, 2006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567568806000328?casa_token=iPWN5WytZcAAAAA:BGPCfAyVfeObiz_UkOw7xktoLvawPa9GvKD97BxIJRoTCPFF0vcvKZiC2fWmmxF2rR3FcQqYN1EEMw Acesso em: 17 de nov. de 2023.

NASCIMENTO, P. F. C. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 108-113, 2007.

NIELSEN, P. V.; RIOS, R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **International journal of food microbiology**, v. 60, n. 2-3, p. 219-229, 2000. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160500003433?casa_token=cpEdF0p2L1IAAAAA:74Y-Fb2mVvU_21hrp_O07yFmR4pToShBZHE9nq4CTmsDyFrMQ9ZjD_ZbsOQwSxNvT_QaZT682B8IZA Acesso em 01 de out. de 2023.

OLIVEIRA, E. *et al.* Caracterização físico-química e potencial repelente de óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) e de botões florais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). **Trabalho de Defesa Projeto Integrador Instituto Federal Catarinense. Araguari**, 2015. Disponível

em: <https://quimica.memoria.araquari.ifc.edu.br/wp-content/uploads/sites/20/2018/12/TRABALHO-FINAL-CARACTERIZAÇÃO-FÍSICO-QUÍMICA-E-POTENCIAL-REPELENTE-DE-ÓLEO-ESSENCIAL-DE-CITRONELA-E-DE-BOTÕES-FLORAIS-DE-CRAVO-DA-ÍNDIA.pdf> Acesso em: 30 jun. 2024.

OLIVEIRA, G. O. *et al.* Análise da contaminação microbiológica de pães vendidos em Padarias da cidade de Caxias do Sul. IN: **I Congresso de Pesquisa e Extensão da FSG**, Caxias do Sul-RS, de. 2013. Disponível em: <https://ojs.fsg.edu.br/index.php/pesquisaextensao/article/view/480/565> Acesso em: 06 de nov. de 2023.

OLIVEIRA, R. A. *et al.* Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 771-775, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/zg96LXsr5P945LDcP6gXqbJ/> Acesso em: 16 de nov. de 2023.

OUSSALAH, M. *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. **Food control**, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713505002872?casa_token=PfzGYQI9GBMAAAAA:zxRPL7Z1LQ8YwhAljdM0khQXh38yxaW6Ff8V_ZxNgl4eK1vvANEUVdLtc-il56Ndx5oJ9lz_rBwcMA Acesso em: 17 de nov. de 2023.

PATEL, A. R. A colloidal gel perspective for understanding oleogelation. **Current Opinion in Food Science**, v. 15, p. 1-7, 2017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799316301047?casa_token=4782LqamW20AAAAA:54DViV7H2Rr7ItUEcbsxOe-tKsbKYs_Mpt2FLd_Ovd1QSNARVvrn6vueP3zKmzzEUTvX90p5-YxCbQ Acesso em: 18 de nov. de 2023.

PAVARINI, D. P.; LOPES, N. P. A ecologia química e a biossíntese dos terpenos voláteis das “arnicas-da-serra” (*Lychnophora* spp.). **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 242-261, 2016. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/download/1487/735> Acesso em: 15 de nov. de 2023.

PEREIRA, A. de A. *et al.* Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 887-893, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/VTqVrFTrQnNLwRCjTZdKyHm/> Acesso em: 17 de nov. de 2023.

PEREIRA, M. *et al.* Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 731-738, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/GttKGg3rYZzzhVBFJ5t9mmb/?format=html> Acesso em 10 de nov. de 2023.

PINHEIRO, Patrícia Fontes *et al.* Óleos essenciais de manjeriço e gengibre na aromatização de azeite de oliva. **Nucleus**, v. 14, n. 1, p. 189-195, 2017. Disponível

em:

<https://www.nucleus.feituverava.com.br/index.php/nucleus/article/download/1766/2425> Acesso em: 14 de nov. de 2023.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. New York: Springer, 2009. 388 p. v. 519. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-387-92207-2>. Acesso em: 2 out. 2023.

PONCE, A. G. *et al.* Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **LWT-Food Science and Technology**, v. 36, n. 7, p. 679-684, 2003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643804001938?casa_token=b1xDII3bgKYAAAAA:zBGJ5fft5dNr8GhvyHYhZhh4J-rWpHI2KKb8oDkeL5qE7enwdTR0TQbGltwE4obIHtnulh_KSTfO-w#bib13 Acesso em: 10 jun. 2024.

PRADO, J.; ROSTAGNO, M. **Natural product extraction: principles and applications**. Royal Society of Chemistry, 2022. Disponível em: <https://www.perlego.com/book/3569260/natural-product-extraction-principles-and-applications-pdf> Acesso em: 17 de nov. de 2023.

PURKAIT, S. *et al.* Synergistic antibacterial, antifungal and antioxidant efficacy of cinnamon and clove essential oils in combination. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 202, n. 6, p. 1439–1448, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01858-3> Acesso em: 18 de nov. de 2023.

REGO, R.A.; VIALTA, A.; MADI, L.F.C. **Pães industrializados: nutrição e praticidade com segurança e sustentabilidade**. 1. ed. - São Paulo: Abimapi/Ital. Disponível em: <https://ital.agricultura.sp.gov.br/paes-industrializados/2/> Acesso em: ,01 de out. de 2023.

RODELLA, F. M. Extração e a Atividade Antibacteriana do Óleo Essencial do Cravo da Índia. **Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação**. Assis, 2015. <https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/1211360043.pdf>

ROSSATTO, E. R. P. **Avaliação do potencial antifúngico de microcápsulas contendo óleo essencial de orégano em pães de forma**. 2019. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/236513/001139194.pdf?sequence=1> Acesso em: 28 jun. 2024

SAMADI, M. *et al.* Assessing the kinetic model of hydro-distillation and chemical composition of *Aquilaria malaccensis* leaves essential oil. **Chinese journal of chemical engineering**, v. 25, n. 2, p. 216-222, 2017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1004954116302208?casa_token=qnxUhoD1b2QAAAAA:xkpdw52zqfZA1jUZP1Q-ILLqhA9dpvy51rV1nTEwaq70mCRphXWTIf5tIMVvBG1ltnQr5AogzCKAqg Acesso em: 16 de nov. de 2023.

SANTOS, J. L. P. *et al.* Incidence, populations and diversity of fungi from raw materials, final products and air of processing environment of multigrain whole meal

bread. **Food Research International**, v. 87, p. 103-108, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996916302782> . Acesso em: 29 de out. de 2023.

SCHERER, R. *et al.* Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 442-449, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/vS9Lhw4hkg8yJK6yn5HT5qC/> Acesso em: 17 de nov. de 2023.

SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS. **Conservantes para pães**. Resposta elaborada por Larisse Araújo Lima. Brasília: CDT/UnB, 2011. Disponível em: <https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/sbrt/conservantes-para-paes,e1e69f017bf82810VgnVCM100000d701210aRCRD> Acesso em: 01 de out. de 2023.

SHARIF, Z. I. M. *et al.* Review on methods for preservation and natural preservatives for extending the food longevity. **Chemical Engineering Research Bulletin**, v. 19, 2017. Disponível em: <https://www.banglajol.info/index.php/CERB/article/view/33809> Acesso em: 10 de nov. de 2023.

SILVA, A. A. *et al.* Atividade microbiológica de óleos essenciais obtidos por arraste a vapor. **Uningá Review**, v. 20, n. 3, 2014.

SILVA, M. G. F. da. **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/15424/2/PB_COQUI_2011_2_13.pdf Acesso em: 16 de nov. de 2023.

SILVEIRA, M. P. **Desempenho antifúngico de óleos essenciais de canela, cravo e louro em bolores de pães de forma integrais**. 2019. 143 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019. Disponível em: <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2338> Acesso em: 02 de nov. de 2023.

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**, v. 57, p. 589-594, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcceres/a/tgjGTK5Lj95w5HdfHMPnN9N/> Acesso em: 16 de nov. de 2023.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis, p. 387-415. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2a ed. ver. Porto Alegre, Ed. UFRGS, Ed. UFSC, 2000.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965. Disponível em: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144> Acesso em: 19 de nov. de 2023.

SIRAJ, N. *et al.* Organogelators as a saturated fat replacer for structuring edible oils. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 9, p. 1973-1989, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/10942912.2014.951891> Acesso em: 17 de nov. de 2023.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136-141, 2012. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166911006732?casa_token=PASjLqa2CeQAAAAA:k0wHxb6ah6TxNn33b37ObCcuRoUFgTD-3f6ZtGGXnEtuk74h6s2af4sJFPrZ6TkYPmABiZ0gSpfS5w Acesso em 04 de nov. de 2023.

SOUZA, B. A. *et al.* Aditivos Alimentares: Aspectos tecnológicos e impactos na saúde humana. **Revista Contexto e Saúde**, Santa Maria, ano 2019, v. 19, n. 36, p. 5-13, 2019. Disponível em: <https://revistas.unijui.edu.br/index.php/contextoesaude/article/view/7736>. Acesso em: 5 de nov. de 2023.

SOUZA, S. M. C. de *et al.* Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 685-690, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/4HnjVhwmhFTTbTKq5psdMBz/?lang=pt> Acesso em: 15 de nov. de 2023.

STORTZ, T. A. *et al.* Edible oleogels in food products to help maximize health benefits and improve nutritional profiles. **Lipid Technology**, v. 24, n. 7, p. 151-154, 2012. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/lite.201200205?casa_token=7w1AkLle a-UAAAAA:Otf58mR3N_gz6Hlms5x7r4YHHKkW22SzSbzM4cjRhmfBqp6lm6_0mUYD TpKJCDqGSuhkRsfrUX-UxoAb8A Acesso em: 18 de nov. de 2023.

TACO/NEPA. Tabela brasileira de composição de alimentos. **Revista Ampliada NEPA**, 4. Ed. Ver e ampl. -UNICAMP – Campinas, 2011. Disponível em: https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf. Acesso em: 05 de out. de 2023.

TORTORA, G. *et al.* Microbiologia. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=TORTORA%2C+Gerald+et+al.+Microbiologia&btnG=7. Acesso em: 9 mai. 2024.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/LfHYRBBPMkjtn9sYpNkdpHb/?format=html&lang=pt> Acesso em: 15 de nov. de 2023.

ZANDONÁ, L. R. **Produção de biscoitos recheados com formação de organogel na base gordurosa**. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-20122021-124136/publico/Lais_Ramalho_Zandona_ME_Corrigida.pdf Acesso em: 17 de nov. de 2023.

ZETZL, A. K.; MARANGONI, A. G. Novel strategies for nanostructuring liquid oils into functional fats. In: **Edible Oleogels**. Ontario, Canada, 2011. p. 19-47. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978098307911850005X> Acesso em: 13 de set. de 2023.