

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO
GRANDE DO SUL - CAMPUS ERECHIM

JOSIELI APARECIDA VANZO

**Aplicação de Óleo Essencial de Orégano (*Origanum
vulgare*) para Inibição de Fungos Filamentosos em
Massas de Pizza Pré-Assada**

Erechim

2023

JOSIELI APARECIDA VANZO

Aplicação de Óleo Essencial de Orégano (*Origanum vulgare*) para Inibição de Fungos Filamentosos em Massas de Pizza Pré-Assada

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à componente curricular de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior em Engenharia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul - *Campus* Erechim.

Orientadora: Prof^a. Dra. Valeria Borszcz

Co-orientador: Prof. Me. Guilherme Barcellos de Moura

Erechim

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde, inteligência e força para superar todas as dificuldades e conseguir chegar até aqui, me permitindo viver esse momento distintos que muitas vezes causam desespero e frustrações mas nada comparado com as alegrias de ter chegado até aqui.

A orientadora Profa. Dra. Valeria Borszcz e ao Co-orientador Prof. Me. Guilherme Barcellos de Moura por toda sua atenção, dedicação, paciência, disposição e esforço, dividindo o seu tempo e conhecimento comigo, para que eu pudesse ter confiança e segurança na efetuação deste trabalho.

Aos meus pais, João Vanzo e Ozilda Faenelo Vanzo pelo amor, pelos bons exemplos, pelos conselhos, pelos incentivos, pelas cobranças, pelo afeto e pela confiança depositada em mim. Ao meu esposo Neimar Antonio Segatti, por ser meu porto seguro sempre me incentivando a não desistir, pela compreensão e pelo esforços e cuidado com nossa pequena Laura, o que me proporcionava tranquilidade para realizar as tarefas longe de casa. E aos demais familiares que de uma maneira ou outra contribuíram para o meu resultado.

Às professoras da disciplina Profa. Dra. Priscilla Pereira dos Santos e Profa. Dra. Greici Bergamo, pelas contribuições quanto direcionamento, estruturação e escrita do relatório. Aos técnicos Monalise Marcante Meregalli e Jonatan Tonin, pela ajuda com as análises físico-químicas e microbiológicas.

Às professoras membros da banca, pelos ensinamentos e também pelas correções e sugestões apresentadas. A todos os professores que tive a oportunidade de conhecer durante as disciplinas, que compartilharam de seus conhecimentos, contribuindo não apenas com meu crescimento profissional, mas também com meu crescimento pessoal.

A empresa Nordeste pela doação da farinha que foi utilizada para a elaboração da massa de pizza pré-assada.

LISTADE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma do processo de elaboração da massa de pizza pré-assada.	17
Figura 2: Processo de laminação, corte e perfuração da massa.....	18
Figura 3: Aspersão do álcool e da mistura óleo e álcool nas massas de pizzas pré-assadas.	19
Figura 4: Controle de temperatura (esquerda) e obtenção do ponto de véu da massa (direita)..	22
Figura 5: Massa de pizza com perfurações (em cima) e sem perfurações (embaixo).	23
Figura 6: Resultados das análises microbiológicas de pizzas com aplicação de óleo essencial de orégano, armazenadas durante 20, dias a temperatura ambiente.....	24
Figura 7: Amostra de placas de Petri após 20 dias incubação, com concentrações 1 % (esquerda), 2 % (direita) e 3 % (centro).	26
Figura 8: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial e 5 dias.....	27
Figura 9: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial, 5 e 10 dias.	28
Figura 10: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial, 5,10 e 15 dias.	29
Figura 11: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial, 5, 10, 15 e 20 dias....	30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVO	8
2.1 Objetivo Geral	8
2.2 Objetivos específicos	8
3. EMBASAMENTO TEÓRICO	8
3.1. Pizza.....	8
3.1.1 Processo de fabricação de massa de pizza pré-assada	9
3.2. Fungos filamentosos em produtos de panificação	12
3.3. Óleos essenciais.....	13
3.3.1. Aplicação de óleos essenciais em produtos de panificação	14
3.3.2 Óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i>	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
4.1. Óleo essencial.....	16
4.2. Elaboração da massa de pizza pré-assada	16
4.3. Caracterização físico-química da massa	18
4.3.1 pH	18
4.3.2 Umidade	18
4.4. Aplicação do óleo essencial	19
4.5. Amostras de massa de pizza pré-assadas	20
4.6. Avaliação microbiológica das amostras	20
4.8. Análise estatística	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
5.1. Elaboração da massa de pizza pré-assada	22
5.2. Caracterização físico-química da massa	23
5.3. Avaliação microbiológica das amostras	24
5.4. Análise estatística	26
6. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS:.....	31

RESUMO

A pizza é um produto tradicionalmente consumido nos países europeus, principalmente Itália, com grande expansão em países americanos. Como possui um alto valor agregado, uma das formas de redução de custo é adquirir a massa pré-assada e montar conforme o sabor de preferência. Contudo, essa massa pode apresentar uma vida-de-prateleira muito reduzida (3 a 5 dias) quando não é adicionada de conservantes, já que possui alto teor de umidade e, conseqüentemente, está sujeita ao desenvolvimento de fungos filamentosos. Portanto, uma possibilidade para a conservação é a utilização de produtos naturais com potencial antimicrobiano. O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) é composto por carvacrol, timol, terpenos, ácido rosmarínico, além de outras substâncias como flavonoides, minerais (magnésio, cálcio, zinco, ferro, potássio, cobre, boro e manganês) e vitaminas (A, C, E e niacina), que são benéficas à saúde humana. Devido à presença de ácido fenólico e flavonoides, o óleo apresenta alta atividade antioxidante. A presença de fenóis, como carvacrol e timol, lhe confere alta ação antimicrobiana contra patógenos presentes em alimentos, uma vez que esses compostos são responsáveis por lesar as membranas plasmáticas lipídicas das bactérias, impossibilitando a divisão celular e desidratando as células. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho do óleo essencial de orégano na inibição de fungos filamentosos em massas de pizza pré-assadas. Para produzir as amostras, foram utilizadas três concentrações de óleo (1, 2 e 3%) dissolvido em álcool de cereais e aspergido sobre as massas pré-assadas que, em seguida, foram embaladas em filme plástico flexível. Análises de contagem de bolores e leveduras foram conduzidas nos dias 0, 5, 10, 15 e 20 de armazenamento em temperatura ambiente. Foi possível observar que o óleo empregado apresentou ótimos resultados mesmo na menor concentração utilizada (1%), podendo aumentar a vida de prateleira em até 12 dias. Cabe destacar que a solução contendo 2 % de óleo essencial apresentou o melhor desempenho na inibição, de modo que as contagens de bolores e leveduras apresentaram valores dentro do limite preconizado pela legislação brasileira após 20 dias de armazenamento.

Palavras-chave: Bolores; Panificação; Vida de Prateleira.

ABSTRACT

Pizza is a traditional product consumed in European countries, mainly Italy, with great expansion in American countries. Pizza has a high added value and a way of reducing costs is obtaining pre-baked dough and prepare according to preference. However, pre-baked dough presents a very reduced shelf-life (3 to 5 days) due to its high moisture content, being subject to filamentous fungi growth if none food preservative is added. A possible preservative method is to employ potential antibiotic natural products. Oregano (*Origanum vulgare*) essential oil composition present carvacrol, thymol, terpenes, rosmarinic acid, other substances such as flavonoids, minerals (magnesium, calcium, zinc, iron, potassium, copper, boron and manganese) and vitamins (A, C, E and niacin), beneficial to human health. Due to phenolic acid and flavonoids, oregano essential oil shows high antioxidant activity. Phenols, such as carvacrol and thymol, assigns elevated antimicrobial effect over food pathogens, since these compounds can induce plasma membrane damage and cell dehydration inhibiting cell division. Therefore, the present study aimed to evaluate oregano essential oil performance in inhibiting filamentous fungi in pre-baked pizza doughs. Essential oil was dissolved in grain alcohol and prepared in three different concentrations, 1, 2 and 3%. Then, it was sprinkled on doughs, wich were immediately packaged in flexible plastic film and properly sealed to generate study samples. Samples were analyzed by molds and yeasts counting in 0, 5, 10, 15 and 20 days of storage at room temperature. It was noticed that studied oil presented excellent results even in the lowest concentration (1%), since doughs shelf-life increased up to 12 days. The 2% essential oil solution performed higher inhibition effect. After 20 days of storage, the samples treated urith this concentration of essential oli showed a microbiological pattern (for molds and yeasts) within the values allowed by Brazilian legislation.

Key-words: Molds; Baking; Shelf Life.

1. INTRODUÇÃO

A pizza é um produto tradicionalmente consumido nos países europeus, principalmente Itália, com grande expansão em países americanos como Estados Unidos e Brasil (WANG *et al.*, 2005). Consiste em um dos alimentos mais difundidos no mundo, consumido nos mais diversas formas, com significativa representatividade nas vendas do segmento “*fast- food*”, de conveniência e de pratos prontos (COPPOLA; PEPE; MAUREIELLO, 1998).

Como as pizzas prontas geralmente possuem alto valor agregado, uma alternativa para reduzir custos é a aquisição da massa pré-assada, que possibilita a montagem da pizza de maneira fácil e rápida com os ingredientes de sua preferência. Porém, essa massa de pizza, como vários produtos de panificação (pães e bolos, por exemplo), são caracterizados por uma vida útil limitada de 3 a 5 dias em temperatura ambiente, quando nenhum conservante é adicionado (MELINI; MELINI, 2018).

Um dos principais limitadores da vida de prateleira de produtos alimentícios com alto teor de umidade é a deterioração por fungos. O desenvolvimento de bolores e leveduras está relacionado a fatores tanto extrínsecos como intrínsecos do alimento, tornando-se assim extremamente importante a utilização de métodos eficientes de conservação, para aumentar o prazo de validade do produto (SILVA, 2012).

Nesse contexto as indústrias têm buscado novas alternativas para inibir o desenvolvimento de microrganismos, tais como o uso de produtos ou substâncias naturais em substituição aos aditivos alimentares (MENDES, 2017).

Os óleos essenciais são uma ótima alternativa para o desenvolvimento de produtos naturais, podendo apresentar várias formas de aplicação e em diferentes proporções, mostrando-se eficazes na inibição do desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e promovendo a segurança do alimento. Além disso o sabor residual dos óleos essenciais é satisfatório em alguns alimentos, tornando-os diferenciados quanto à qualidade sensorial (SOUZA; STAMFORD; LIMA, 2006).

Nesse sentido o óleo essencial obtido da planta de *Origanum vulgare* (orégano), possui alta atividade antimicrobiana devido ao alto conteúdo de compostos fenólicos presentes em seu óleo essencial (SOUZA; STAMFORD; LIMA, 2006), podendo ser uma

alternativa aos antimicrobianos sintéticos na fabricação de massas, em especial as de pizza.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho do óleo essencial de Orégano (*Origanum vulgare*) na inibição de fungos filamentosos em massas de pizza pré-assada.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar massas de pizza pré-assadas;
- Realizar a caracterização físico-química da massa elaborada;
- Avaliar a vida de prateleira de massas de pizza pré-assadas, após aplicação de óleo essencial de orégano nas concentrações de 1%, 2% e 3%, através de análises microbiológica de bolores e leveduras, durante 20 dias de armazenamento a temperatura ambiente;
- Analisar, interpretar e discutir os resultados após tratamento estatístico dos dados obtidos.

3. EMBASAMENTO TEÓRICO

3.1. Pizza

A panificação é um dos mais antigos processos biotecnológicos, e os produtos elaborados são constituintes da dieta humana a milhares de anos. O cereal mais importante na panificação é o trigo, embora em algumas partes do mundo o uso de centeio é bastante substancial (GOESAERT *et al.*, 2005).

A pizza é um produto panificável que teve origem no Egito e que veio para o Brasil no século XX, através de descendentes italianos. Apresenta como característica uma massa levedada e achatada, normalmente de formato arredondado e com cobertura. Atualmente é um dos alimentos mais consumidas no mundo sendo popular na Europa e

na América. Recentemente, com o aumento do poder de compra dos brasileiros, a busca por produtos saborosos, nutritivos e convenientes vem crescendo e levando a uma diferenciação no mercado de pizzas, com diversificados sabores, ingredientes e com grande apelo para produtos naturais (CAMPELO *et al*, 2017).

Segundo Mathewson (2000), a pizza é um produto com consistência esponjosa, resultado da fermentação da massa por levedura. A massa é obtida a partir da mistura de farinha de trigo, água, sal e fermento biológico (natural ou comercial), sendo que algumas variações utilizam açúcar e uma fonte de lipídio como óleo vegetal ou gordura de origem animal. Como cobertura utiliza-se basicamente molho de tomate, queijo, especiarias e outros alimentos, havendo variações conforme cada sabor (GISSLEN, 2011).

As pizzas são comercializadas prontas para consumo, congeladas ou como massas pré-assadas. As massas pré-assadas de pizza, sem recheio, são produtos de conveniência principalmente para os consumidores atuais que buscam cada vez mais praticidade. São produtos que se encontram disponíveis nos mercados, a baixo custo, possibilitando a adição de vários recheios conforme o gosto do consumidor e com preparo em poucos minutos (PINHO; MACHADO; FURLONG, 2001).

O conceito de pré-assamento é muito utilizado na indústria de panificação e consiste em interromper o processo de assamento do produto antes que ele se conclua por completo, sendo que o produto passa pelas mesmas etapas anteriores de processamento. Este processo térmico do produto possibilita a estocagem do mesmo à temperatura ambiente, de refrigeração ou de congelamento (ROSELL; SANTOS, 2010).

3.1.1 Processo de fabricação de massa de pizza pré-assada

A massa da pizza é um item de extrema importância para a aceitação do consumidor, já que a mesma constitui uma fração significativa do produto, de modo que atributos como aparência, textura e sabor da massa definem a qualidade do produto final. As massas são constituídas basicamente de farinha, água, sal, açúcar, fermento biológico e conservantes propionato de cálcio e sorbato de potássio, de maneira que cada ingrediente desempenha uma função diferente na formação do produto (BREWER *et al.*, 1993).

A farinha é o ingrediente majoritário na elaboração da massa de pizza. A legislação brasileira define como farinha de trigo o produto elaborado com grãos de trigo

(*Triticum aestivum L.*) ou outras espécies de trigo do gênero *Triticum* (exceto grãos de trigo da espécie *Triticum durum Desf*) ou combinações por meio de trituração ou moagem e outras tecnologias ou processos (BRASIL, 2005). Também é estabelecido a necessidade do enriquecimento da farinha com ferro e ácido fólico como estratégia para combate da má formação de bebês durante a gestação e da anemia (BRASIL, 2022).

A farinha de trigo apresenta uma grande variedade de utilização em alimentos, sendo um dos principais componentes da dieta humana. Sua utilização se dá devido ao desenvolvimento da rede de glúten que ocorre durante a mistura da farinha com água. Esta rede proteica apresenta propriedades viscoelásticas que favorecem a formação de uma massa com elasticidade e extensibilidade (PECIVOVA; BURESOVA; BILKOVA, 2010).

Para obtenção de uma massa de pizza de qualidade a farinha deve ter uma força média na análise de glúten, com valores de força do glúten (W) maior que 180×10^{-4} J e uma capacidade de absorção de água em torno de 60% parâmetros medidos pelas análises de alveografia e farinografia, respectivamente. Isso possibilita que a massa apresente mais extensibilidade do que elasticidade, para a mesma não encolher após a formação dos discos das massas de pizza (DOSSIÊ FARINHA MIRELLA, 2021).

Depois da farinha de trigo, a água é o principal ingrediente da panificação, sendo considerada um solvente universal. Na massa de pizza ela exerce funções de controle de temperatura da massa, dissolução de sais, permite o desenvolvimento da rede de glúten durante a mistura, a gelatinização do amido durante o forneamento e controla a maciez e a palatabilidade da massa. Não é só a quantidade de água que afeta a qualidade da massa, mas também os teores de sais de cálcio e magnésio presentes na água (grau de dureza). A água dura retarda o processo de fermentação e a água mole torna a massa mole e pegajosa, sendo ideal a utilização de uma água parcialmente dura (SLUIMER, 2005).

O cloreto de sódio é o sal utilizado na culinária, contribuindo para o gosto dos alimentos. Em produtos de panificação, o sal controla a fermentação, reforça a rede de glúten e auxilia no processo de formação de cor da crosta (WILLIAMS; PULLEN, 2007).

Um dos principais constituintes da reação de *Maillard*, responsável pelo desenvolvimento de compostos de cor do produto pré-assado, são os açúcares redutores, que são obtidos geralmente por ação enzimática da quebra de açúcar (sacarose) em glicose. Esse ingrediente também contribui para as reações de fermentação quando adicionado em produtos de panificação (SLUIMER, 2005).

O fermento biológico, composto pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, apresenta a finalidade de expandir a massa tornando-a mais esponjosa e macia. Durante o processo de fermentação os açúcares são consumidos pelos microrganismos produzindo CO₂, além de desenvolver compostos aromáticos desejáveis ao produto final (LAI; LIN, 2006).

A gordura de origem animal ou vegetal desempenha um importante papel para as propriedades organolépticas em produtos fermentados, como as massas de pizza. Ela possui a função de lubrificar a rede de glúten, aumentando a extensibilidade da massa e melhorando a maciez do produto (WILLIAMS; PULLEN, 2007).

Outros ingredientes, como aditivos alimentares, podem ser utilizados na formulação de massas de pizza, com a finalidade de aumentar a vida de prateleira desse tipo de produto, sendo os mais comuns os emulsificantes e conservantes. Os conservantes têm por objetivo inibir o crescimento de bolores e leveduras, sendo que os permitidos para massas de pizza pré-cozida incluem ácido acético e propiônico, propionato de sódio, cálcio e potássio, acetato de cálcio e potássio, dióxido de carbono e glucose oxidase. A legislação brasileira estabelece limites máximos para adição desses aditivos (BRASIL, 2023).

A qualidade do produto final pode ser afetada por diferentes fatores, principalmente pela qualidade dos ingredientes, pela temperatura e tempo de fermentação e forneamento e por hábitos higiênico durante o processo e armazenamento (BREWER *et al.*, 1993).

A perda da qualidade de produtos após o cozimento é o maior problema relacionado aos panifícios e se dá devido a uma combinação de processos químicos e físicos chamados de retrogradação ou envelhecimento e deterioração microbiológica. Para retardar esses processos o produto deve ser condicionado em embalagens apropriadas. Porém, isso ocasiona a formação de um espaço que se mantém úmido devido as alterações de temperatura exteriores, conseqüentemente, oferece ótimas condições para deterioração fúngica. O crescimento de fungos causa grandes perdas econômicas para as indústrias, por afetar as propriedades sensoriais, causar descoloração e decomposição do produto e gerar micotoxinas, que podem representar um risco à saúde dos animais e dos seres humanos (HERRAS- MOZOS *et al.*, 2019).

3.2. Fungos filamentosos em produtos de panificação

O Reino Fungi é um dos grupos microbianos mais populosos, podendo viver em diversos ambientes. Sua dispersão na natureza ocorre pelo ar, água, sementes, insetos, animais e seres humanos. Esse Reino é composto por leveduras, organismos unicelulares, por fungos filamentosos (cogumelos e bolores) e organismos multicelulares. As leveduras são esféricas, ovais ou cilíndricas. Os fungos filamentosos, por sua vez, formam massas visíveis a olho nu chamadas de micélio, compostas de longos filamentos chamados de hifas que se ramificam e se entrelaçam (TAKAHASHI *et al.*, 2017).

Segundo Freire (2011), os gêneros de fungos filamentosos comumente encontrados em produtos panificados brasileiros têm sido: *Aspergillus*, *Chrysonilia*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor*, mas as espécies de *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium* ocorrem com maior frequência.

As espécies do gênero *Penicillium* estão difundidas em diferentes partes do ambiente, devido à pouca exigência nutricional e por metabolizarem formas complexas de carbono orgânico. Seu desenvolvimento se dá predominantemente em produtos armazenados em condições de alta umidade relativa (>86%) e com temperatura entre 20 e 25°C. Suas colônias, exceto em alguns casos, apresentam crescimento rápido, são lisas, filamentosas, podendo apresentar textura aveludada, cotonosa e flocosa. Geralmente no início de seu crescimento apresentam coloração branca que se tornam coloridas (principalmente tons de verde e azul, verdes acinzentadas ou amarelas) após esporuladas (PITT; HOCKING, 2009).

Entre os fungos filamentosos, *Aspergillus* é um dos maiores gêneros, pois abrange mais de 250 espécies (RUDRAMURTHY *et al.*, 2019). As espécies de *Aspergillus*, que causam doenças humanas e de maior importância para a panificação são:

- *A. flavus* - apresenta colônias verdes a amarelo-oliva, conídios globosos verde pálidos, finamente enrugados. Desenvolvem-se em ampla faixa de temperatura (10 e 48°C) e pH (2,1-11,2), com ótimo desenvolvimento em 33°C, pH próximo a neutralidade, e atividade de água mínima em torno de 0,80.

- *A. niger* - Apresenta conídios esféricos de coloração preta que conferem proteção à radiação UV. As condições ótimas de crescimento é de 35 a 37°C e atividade de água de 0,77, porém pode se desenvolver na faixa de temperatura de 6 a 47°C.

- *A. candidus* - Pode crescer em atividade água de até 0.75. A temperatura ótima de crescimento pode variar desde 20 até 50°C, mas sua faixa de desenvolvimento é de 3 a 55°C.

- *A. sydowii* – Apresenta temperatura mínima de crescimento de 9°C, máxima de 39°C, com produção de conídios de coloração azul, vesículas pequenas e formação de conidióforos menores, pode se multiplicar em valores de atividade de água de até 0,78 (PITT; HOCKING, 2009).

Entre as espécies de *Aspergillus*, o que causa maior preocupação em produtos de panificação é o *A. flavus*, por causar doenças pré e pós-colheita em várias safras de trigo e por sua toxicidade em humanos e animais relacionadas à produção de aflatoxina (RUDRAMURTHY et al., 2019). As aflatoxinas são as micotoxinas mais importantes quando se fala de produtos de panificação. São metabólitos secundários altamente tóxicos produzidos por fungos que podem crescer em uma ampla variedade de alimentos e rações sob temperatura e umidade favoráveis, que é o caso dos produtos panificados (KHAYOON et al., 2010).

3.3. Óleos essenciais

A busca da sociedade por consumo de produtos mais saudáveis impulsiona o desenvolvimento de produtos com menor quantidade de aditivos alimentares sintéticos nos alimentos e com menor impacto à saúde do consumidor, mas ao mesmo tempo existe uma grande preocupação em reduzir ou eliminar microrganismos indesejáveis presentes nos alimentos. Pensando nisso o uso de óleos essenciais é uma boa alternativa, já que esses compostos naturais estão relacionados com propriedades antimicrobianas e antioxidantes (BOTRE et al., 2010).

Os óleos essenciais são substâncias voláteis que podem ser extraídas de várias partes do vegetal, como caules, folhas, raízes, frutos e sementes. A principal diferença entre os óleos essenciais e os demais óleos vegetais graxos, está diretamente relacionada a capacidade que os óleos essenciais têm de evaporarem ou volatilizarem em contato com o ar (GONÇALVES, 2016).

Esses óleos são adquiridos a partir do metabolismo secundário dos vegetais, podendo apresentar de 20 a 60 constituintes. Sua composição pode ser determinada pelos fatores genéticos da planta e afetada por diversos fatores ambientais, como clima, solo,

estações do ano, forma de plantio, adubação, uso de agrotóxicos, irrigação, tempo e condições ambientais, material da colheita fresco ou seco, técnica de extração e padrões de variação geográfica (SEFIDKON *et al.*, 2007 *apud* RIBEIRO; BONILLA; LUCENA, 2018)

A constituição dos óleos essenciais é principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, metabólitos que conferem as características organolépticas. Na classe dos terpenoides, os monoterpenos podem representar a fragrância pois são os compostos responsáveis pela atração dos polinizadores à planta. Os sesquiterpenos são responsáveis pela proteção da planta, e por isso, a maior parte tem ação antifúngica e antibacteriana, já os diterpenoides participam do metabolismo dos hormônios de crescimento vegetal das plantas (PROBST, 2012).

3.3.1. Aplicação de óleos essenciais em produtos de panificação

Estudos com óleos essenciais de plantas para a inibição de fungos filamentosos em produtos de panificação são comumente encontrados na literatura, mostrando resultados satisfatórios e promissores. Clemente, Aznar e Nerín (2019) avaliaram a atividade antifúngica de óleos essenciais de mostarda e canela na conservação de pão espanhol. Os autores encontraram bons resultados para a combinação de canela e mostarda, o qual inibiu o crescimento de bolores das amostras avaliadas no estudo. Quando usados separadamente a mostarda mostrou resultados melhores que a canela, porém foi rejeitada sensorialmente.

Em um estudos, realizados, por Císarová e seus colaboradores (2019), os óleos essenciais de tomilho, cravo, orégano, canela e capim-limão se mostraram altamente eficazes contra espécies de *Aspergillus* toxigênicas testadas na fase de vapor em pães. Porém manjeriço, alecrim e sálvia não apresentaram nenhuma atividade antifúngica significativa nesse produto. Sensorialmente apenas as amostras de orégano e capim-limão foram rejeitadas.

Em outro estudo, a atividade antifúngica de óleos essenciais de sete especiarias comestíveis (anis, peppermint, cravo, canela, pimenta, citronela e cânfora) foi testada contra três fungos filamentosos (*A. niger*, *A. oryzae* e *A. Ochraceus*), isolados de pão integral em estado natural e comparada por difusão em disco de ágar e método de placa de gradiente. Após os testes iniciais os óleos essenciais de canela e cravo foram

selecionados para testar os efeitos sobre o crescimento micelar e germinação de esporos. O óleo de canela mostrou atividade antifúngica mais forte que o de cravo, mas ambos apresentaram capacidade de inibição do crescimento micelar e germinação de esporos dos três tipos de fungos deteriorantes de pão, sendo capazes de estender a vida de prateleira do produto (HU *et al.*, 2019).

Os óleos essenciais de cravo, canela e louro mostraram efeito antifúngico sobre os bolores de pães de forma integrais, testados como aditivos na formulação, aplicação na superfície e em embalagem ativa biodegradável. Porém, sua aplicação na superfície dos pães apresentou maior viabilidade comparada com a aplicação como aditivo na formulação do produto. Em relação à aplicação em embalagens biodegradáveis, os filmes apresentaram características físicas adequadas e capacidade de inibição e retardo do desenvolvimento de fungos presentes nos pães de forma integrais (SILVEIRA, 2019).

Óleos essenciais de algumas espécies de *Lamiaceae* como manjeriço (*Ocimum basilicum L.*), lavanda (*Lavandula angustifolia Mill.*), orégano (*Origanum vulgare L.*), hortelã (*Metha piperita L.*) e sálvia (*Salvia officinalis L.*), também vêm sendo estudadas por sua ação antifúngica. Císarová (2018), isolou 195 fungos de 8 amostras de pão atribuídos a 10 gêneros diferentes, os mais frequentes foram *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum* e *Eurotium*. A melhor atividade antifúngica foi demonstrada pelos óleos essenciais de orégano e lavanda, mas outros óleos essenciais também apresentaram efeito inibidor sobre o crescimento dos fungos *Eurotium spp.*

3.3.2 Óleo essencial de *Origanum vulgare*

Utilizado para fins medicinais e como condimento, *Origanum vulgare* é uma planta pertencente à família *Lamiaceae*, conhecida popularmente como orégano, em alguns lugares também pode ser chamada de manjerona silvestre ou manjerona rasteira. Suas propriedades medicinais apresentam ação analgésica, estimulante da digestão e expectorante (PULICI, 2012).

O óleo essencial de orégano é composto por carvacrol, timol, terpenos, ácido rosmarínico, além de outras substâncias como flavonoides, minerais (magnésio, cálcio, zinco, ferro, potássio, cobre, boro e manganês) e vitaminas (A, C, E e niacina), que são benéficas a saúde humana. Devido à presença de ácido fenólico e flavonoides, apresenta alta atividade antioxidante (BHARTI; VASUDEVA, 2013). A presença de fenóis, como

carvacrol e timol o torna um óleo com alta ação antimicrobiana contra patógenos presentes em alimentos, uma vez que esses compostos são responsáveis por lesar as membranas plasmáticas lipídicas das bactérias, impossibilitando a divisão celular e desidratando as células (ARAÚJO; LONGO, 2016).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Óleo essencial

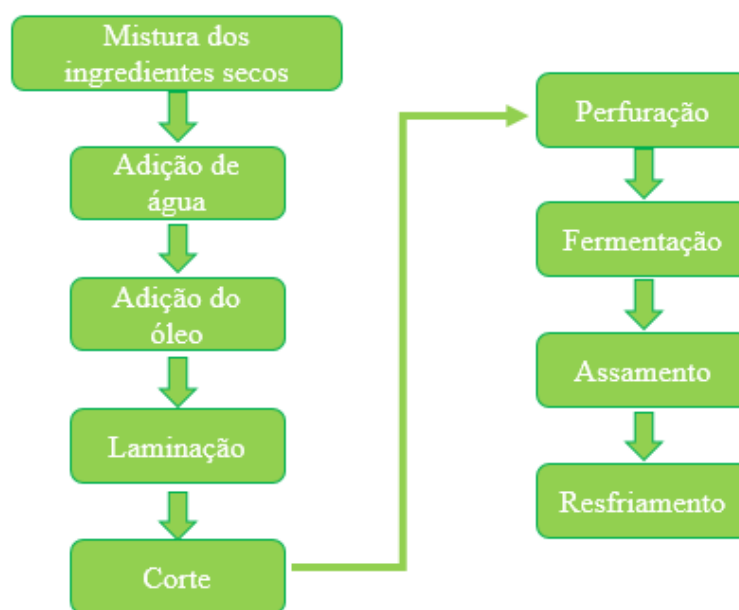
O óleo essencial de Orégano (*Origanum vulgare*) foi obtido por meio de compra em estabelecimento especializado, sendo adquirido óleo da marca Harmonie.

O óleo foi diluído em álcool de cereais para a obtenção das três concentrações desejadas (1:99, 2:98 e 3:97; v:v; orégano para álcool de cereais; respectivamente). O álcool utilizado foi da marca Tupi, com concentração de 94,4 °INPM.

4.2. Elaboração da massa de pizza pré-assada

A massa de pizza foi elaborada na Usina Piloto de Panificação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) - *Campus* Erechim, sendo produzida utilizando farinha de trigo tipo 1 para pizza (33,7%), água (60 %), fermento biológico seco instantâneo (1 %), açúcar cristal (1,4 %), sal (1,4 %) e óleo vegetal (2,5 %). A Figura 1 apresenta o fluxograma do processo de elaboração da massa.

Figura 1: Fluxograma do processo de elaboração da massa de pizza pré-assada.



Fonte: A autora, 2023.

Inicialmente todos os ingredientes secos foram misturados na masseira sob baixa rotação. Aos poucos, foi sendo adicionado água gelada até a obtenção de uma massa homogênea e com hidratação de toda a farinha, sob rotação alta. Por fim, adicionou-se o óleo vegetal, mantendo-se a rotação elevada, até que houve a completa absorção do óleo pela massa e controlando a temperatura (no máximo 28 °C), atingiu-se o ponto de véu.

A massa foi então laminada (cilindro, marca Venâncio), cortada com moldes de 20 cm de diâmetro, depositada em assadeiras e perfurada com garfo por 10 vezes para evitar à formação de bolhas (Figura 2). Em seguida foi colocada para fermentar à 30 °C por 1 hora (câmara climatizadora, marca Frilux) assada à 180 °C por 8 minutos (forno turbo elétrico, marca Progás) e resfriada (temperatura ambiente) sobre a bancada.

Figura 2: Processo de laminação, corte e perfuração da massa.



Fonte: A autora, 2023.

4.3. Caracterização físico-química da massa

As amostras de massa pré-assadas foram submetidas às análises de pH e umidade, no mesmo dia de sua produção. Essa análises foram realizadas no laboratório de Análise de Alimentos do IFRS – *Campus Erechim*.

4.3.1 pH

Para a análise de pH foram pesadas 10 g de amostra triturada, em balança analítica, sendo adicionado 100 mL de água destilada, agitando-se durante 30 minutos em agitador magnético (marca Solab). Posteriormente foi realizada a leitura do líquido sobrenadante em pHmetro digital (marca Tecnonon, modelo PA210). A análise foi realizada em triplicata (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.3.2 Umidade

A análise de umidade seguiu o modelo descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e se deu pelo método de secagem em estufa (marca Fortinox, modelo Star FT200CR) a uma temperatura de 105 °C, até obtenção de peso constante. A umidade nesse método é obtida pela diferença de peso da amostra antes e depois da secagem e expressa em valor percentual.

As amostras foram previamente preparadas por desintegração mecânica utilizando garfo e faca, até obtenção de partículas pequenas e uniformes. A análise foi conduzida pesando-se 3 g de amostra com precisão de 0,1 mg, em balança analítica (marca Shimadzu, modelo UAY 220). O tempo inicial de secagem foi de 3 horas e o tempo entre as pesagens foi de 30 minutos, até obtenção de peso constante. Esse processo se deu até a obtenção de peso constante. A análise foi realizada em triplicata.

4.4. Aplicação do óleo essencial

Após o resfriamento das massas de pizza pré-assadas (quando as mesmas atingiram uma temperatura de no máximo 5 °C acima da temperatura ambiente), as massas que receberam o óleo foram colocadas sobre uma grade e o mesmo foi aspergido com o auxílio de borrifadores em ambos os lados da pizza, como mostra a Figura 3, sendo embalada imediatamente após a aspersão. O mesmo processo foi realizado para as três concentrações de óleo sendo aplicado 1 %, 2 % e 3 % respectivamente, resultando em 3 (três) diferentes amostras de massa de pizza pré-assada com aplicação de óleos essenciais.

Figura 3: Aspersão do álcool e da mistura óleo e álcool nas massas de pizzas pré-assadas.



Fonte: A autora, 2023.

As amostras foram embaladas em filme plástico flexível, fechadas em Seladora (marca Sulpack) e armazenadas em local seco e arejado, em temperatura ambiente durante 20 dias.

4.5. Amostras de massa de pizza pré-assadas

Além das três amostras contendo 1%, 2% e 3% de óleo essencial de orégano, foram produzidas mais duas amostras, denominadas controle e álcool. A amostra controle foi produzida seguindo os mesmos procedimentos adotados para as demais amostras, apenas não recebeu aplicação de óleo essencial de orégano. A amostra álcool também foi produzida seguindo os mesmos procedimentos adotados para as demais amostras e recebeu apenas a aspersão de álcool (diluyente do óleo essencial). As amostras foram representadas no estudo conforme Tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Representação das amostras de massa de pizza pré-assada

Amostra	Representação
1% óleo de orégano	1%
2% óleo de orégano	2%
3% óleo de orégano	3%
Álcool	A
Controle	B

4.6. Avaliação microbiológica das amostras

A avaliação microbiológica das amostras foi realizada no Laboratório de Microbiologia do IFRS – *Campus* Erechim e seguiu o método padrão para contagem de bolores e leveduras segundo o método preconizado por Silva *et al.* (2017).

Para a realização das análises as placas foram preparadas com ágar BDA (Ágar Batata Dextrose), que foi fundido e adicionado 1,5mL de solução de ácido tartárico 10 % para cada 100 mL de meio. As placas foram vertidas com cerca de 15 mL do meio, deixando solidificar em superfície plana semi-abertas dentro da câmara de fluxo laminar.

Em seguida foram coletadas três massas de pizza pré-assadas de cada tipo. Dentro da câmara de fluxo laminar essa quantidade de amostra foi triturada e com auxílio de uma balança analítica foram pesadas 25 g de amostra. Em um saco *Stomacher* foi adicionado a amostra e solução de água peptonada, na concentração de 0,1 %. Essa mistura foi

colocada no homogeneizador de amostras (marca Boitton), por 60 segundos. Esse procedimento foi realizado pra todas as amostras.

A amostra após ser homogeneizada no saco stomacher foi considerada a concentração 10^{-1} . Para a concentração 10^{-2} foi utilizado um tudo de ensaio previamente identificado contendo 9 mL solução salina peptonada e foi pipetado 1 mL da concentração 10^{-1} e homogeneizado em homogeneizador de tubo de ensaio por 10 segundos. Para a obtenção da concentração 10^{-3} o procedimento acima foi refeito mas agora pipetando 1 mL da concentração 10^{-2} .

Com as diluições feitas, foi realizado o plaqueamento, onde 0,1 mL das soluções foi transferida para a placa previamente preparada, esse processo foi realizado sob a bancada próximo ao bico de *Bunsen*, sendo que cada placa foi identificada com o dia, a diluição e o código da amostra. Após aplicada sobre a placa, o inóculo foi espalhado uniformemente na superfície do ágar com o auxílio da alça de *Drigalski*, que era esterilizado diretamente em álcool 70 % e na chama do bico, a cada amostra.

Após o plaqueamento, as placas foram incubadas em estufa à temperatura de 30 °C por 5 dias. Com o término da incubação as placas foram retiradas da estufa e realizado a contagem das colônias em contador de colônias eletrônico (marca Phoenix).

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFCg⁻¹).

A contagem de bolores e leveduras das massas de pizza foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do IFRS – *Campus* Erechim, nos tempos de 0, 5, 10, 15 e 20 dias de armazenamento, de modo a avaliar a vida de prateleira dos produtos.

4.8. Análise estatística

Os resultados obtidos na caracterização físico-química foram tratados estatisticamente e expressos com média e desvio padrão, para efeitos de comparação com as normativas vigentes do produto.

Para a análise microbiológica foram realizados ensaios a partir de três experimentos independentes (n=3) para cada amostra, e os dados foram expressos em UFC g⁻¹. A Análise de Componentes Principais (PCA – do inglês “principal component analysis”) foi utilizada para explicar e interpretar a interdependência dos dados. O

“software” Paleontological Statistics® (Past) versão 3 e Excel (versão 2304) foram utilizados para realizar as análises estatísticas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Elaboração da massa de pizza pré-assada

A produção da massa de pizza pré-assada seguiu todos os procedimentos descritos na metodologia e com isso foi possível obter uma massa com as características desejáveis para o produto. O controle da temperatura da massa (Figura 4) é uma etapa de extrema importância na panificação, pois a mesma não deve ultrapassar 28 °C, o aquecimento da massa pode causar desnaturação de proteínas ocasionando o amolecimento da massa, tornando-a pegajosa, dificultando o manuseio e causando defeitos no produto final.

Outro teste comumente realizado na área de panifícios é a formação do ponto de “véu”. Esse teste serve para verificar a qualidade da rede de glúten formada durante o amassamento e determinar se a massa está pronta para seguir os próximos processos. Se for possível formar um “véu” com a massa como demonstrado na Figura 4, significa que a rede está bem formada e será capaz de reter o CO₂ resultante da fermentação, com isso a massa terá um bom crescimento e conseqüentemente um produto de boa qualidade.

Figura 4: Controle de temperatura (esquerda) e obtenção do ponto de véu da massa (direita).

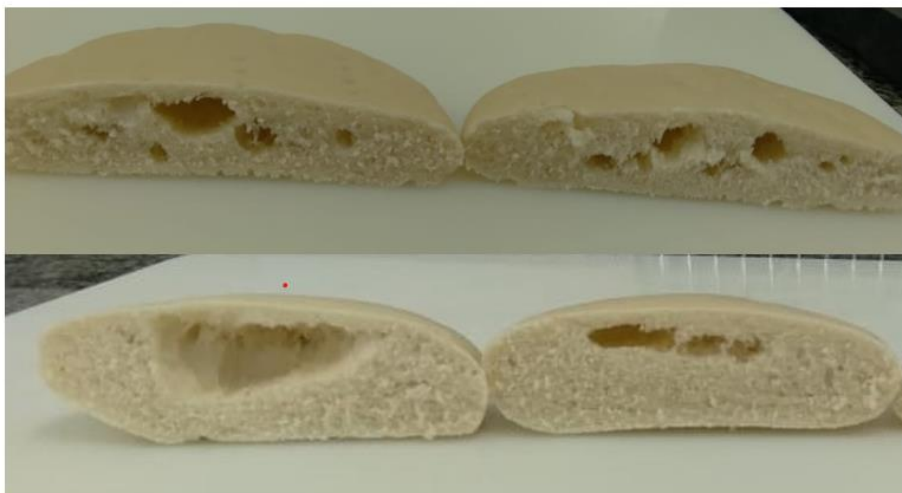


Fonte: A autora, 2023.

Através de testes feitos durante o experimento foi possível observar a necessidade da realização dos furos na massa após a moldagem. Como mostra a Figura 5, onde a

primeira recebeu as perfurações e a segunda não. Na massa que recebeu os furos a produção de CO₂ foi bem distribuída, proporcionando orifícios mais uniformes quando comparadas com a massa que não foi furada, podendo ser observado uma grande bolha.

Figura 5: Massa de pizza com perfurações (em cima) e sem perfurações (embaixo).



Fonte: A autora, 2023.

A uniformidade dos orifícios é uma característica desejável em produtos de panificação pois demonstra uma fermentação homogênea e conseqüentemente uma textura agradável ao paladar. Além disso a massa de pizza deve apresentar uma superfície plana para facilitar a adição do recheio, característica observada apenas na massa perfurada.

5.2. Caracterização físico-química da massa

Na caracterização físico-química da massa elaborada foram encontrados os valores de $5,69 \pm 0,01$ para o pH e $32,57 \pm 0,19$ para umidade. O valor de umidade da massa estudada foi muito próximo ao encontrado por Silva *et al.* (2019), que ao desenvolver uma massa de pizza sem glúten, fonte de fibras adicionada de *Psyllium*, obteve umidade de $33,83 \pm 0,37$ para a amostra controle.

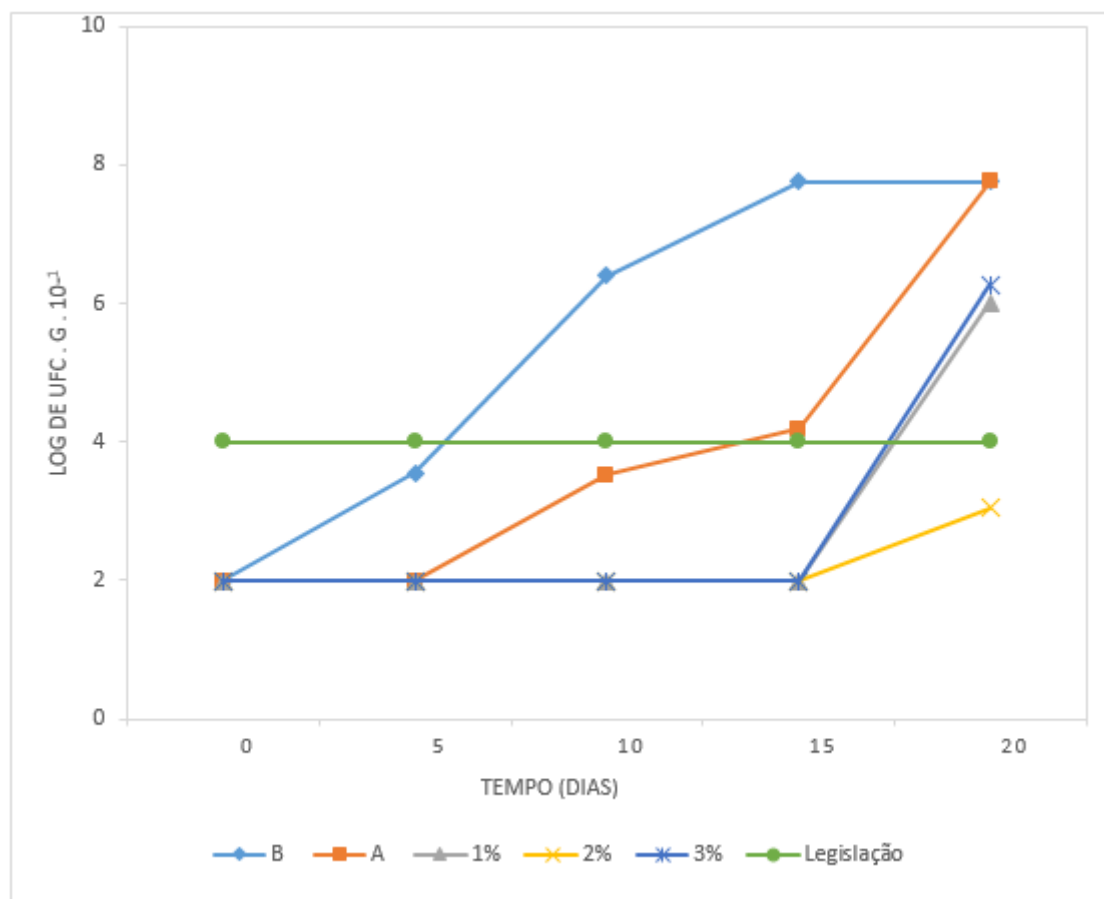
Com relação ao pH os valores encontrados foram próximos aos relatados por Barros *et al.* (2020), que encontrou os valores de $6,08 \pm 0,21$ e $5,79 \pm 0,50$ para duas formulações estudadas, com o objetivo de enriquecimento das massas de pizza com hibisco. Essas duas formulações se diferiram apenas na concentração de farinha de hibisco, a primeira recebeu 2 % e a segunda 4 %, correspondendo respectivamente com

os valores de pH. Esse mesmo estudo encontrou valor de umidade diferente dos citados anteriormente, sendo de $18,07 \pm 1,07$ para a primeira formulação e $19,3 \pm 0,31$ para a segunda.

5.3. Avaliação microbiológica das amostras

Com relação aos produtos de panificação, estáveis à temperatura ambiente, a legislação brasileira estabelece um limite para contagens de bolores e leveduras de no máximo 10^4 UFC/g⁻¹ (BRASIL, 2019). Os resultados obtidos das análises microbiológicas apresentam-se na Figura 6, onde é possível observar a linha verde que corresponde ao limite estabelecido pela legislação brasileira.

Figura 6: Resultados das análises microbiológicas de pizzas com aplicação de óleo essencial de orégano, armazenadas durante 20, dias a temperatura ambiente.



Legenda: Legislação – Limite de contagem mínima para massa de pizza; B – Amostra sem álcool e sem óleo essencial de orégano; A – Amostra com álcool de cereais; 1% - Amostra contendo 1% de óleo essencial de orégano; 2% - Amostra contendo 2% de óleo essencial de orégano; 3% - Amostra contendo 3% de óleo essencial de orégano.

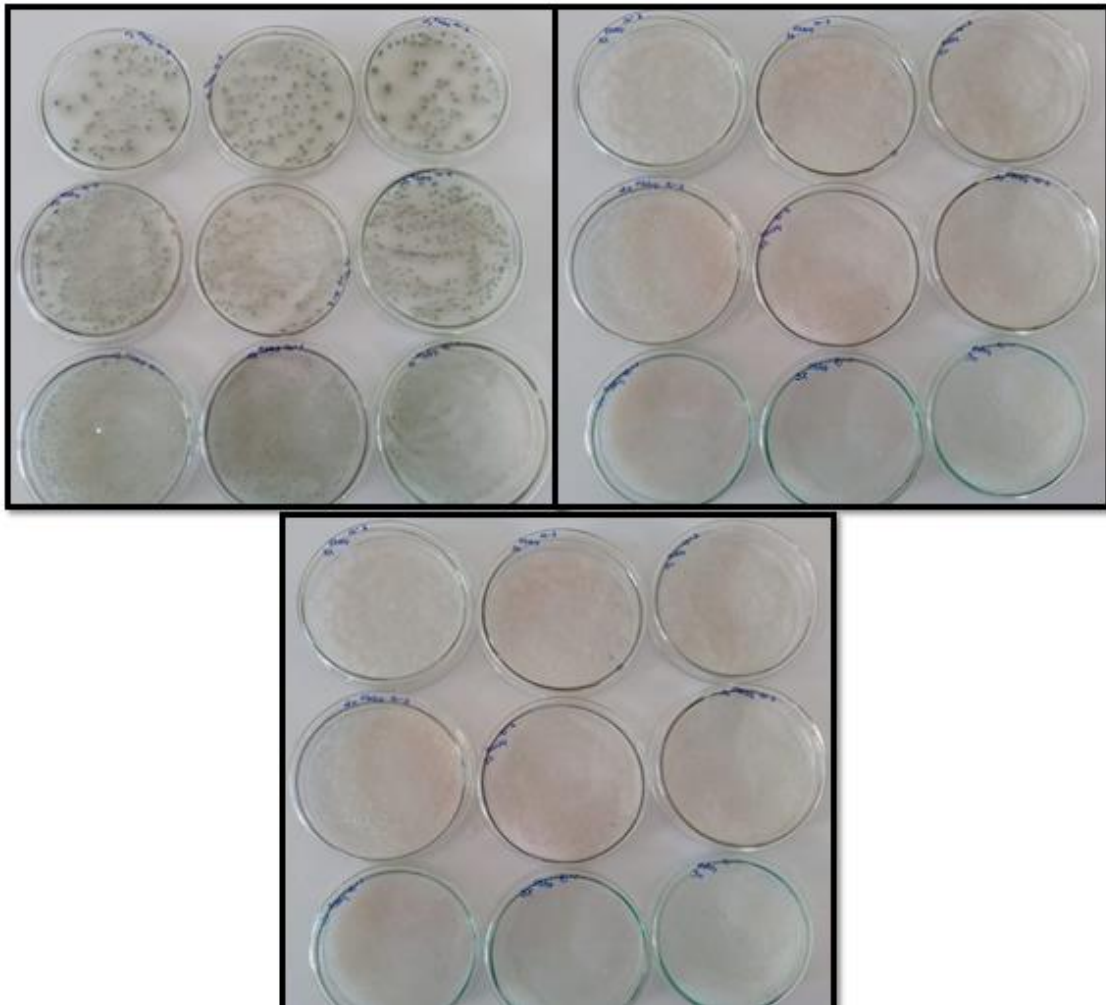
Fonte: A autora (2023).

No gráfico é possível observar que a amostra controle (B) deixou de atender a legislação logo aos cinco dias de experimento, sendo seguida pela amostra com adição de álcool de cereais (A), que deixou de atender os padrões estabelecidos pela legislação aos 14 dias, aproximadamente. Entre as massas de pizza com aspersão de óleo essencial de orégano, as amostras que foram aspergidas com solução de 1 % e 3 % cruzaram essa linha próximo ao dia 17 e a amostra que foi aspergida com solução de 2 % apresentou contagem abaixo do estabelecido pela legislação ao longo dos 20 dias de experimento.

Com esses dados é possível observar que o álcool utilizado para diluir o óleo essencial de orégano interferiu inicialmente no crescimento dos microrganismos, porém não foi suficiente para inibir sozinho o desenvolvimento de bolores e leveduras. As amostras com o óleo essencial apresentaram um desempenho satisfatório na inibição, podendo ser possível aumentar a vida de prateleira em pelo menos 12 dias a temperatura ambiente.

Um fato a ser destacado está relacionado a amostra com concentração de 2 %, a qual apresentou desempenho melhor do que a amostra com 3 %. Uma das hipóteses que justifica esse resultado pode estar na aplicação do óleo essencial de orégano sobre a massa, como foi realizada manualmente com aspersor, pode ter ocorrido falha e a amostra com 3 % não recebeu o óleo uniformemente sobre a sua superfície. Outra alternativa seria a ação inibitória competitiva que certas substâncias têm que após atingir um pico ótimo, na medida que aumenta a concentração, maior será a competição e conseqüentemente, menor a ação no produto. A Figura 7 mostra os microrganismos que se desenvolveram no ágar PDA para as amostras 1, 2 e 3 %. Na amostra de 1 %, as colônias apresentaram coloração escura, ao contrário das placas com 3 %, que apresentam coloração clara, o que indica que não pertencem ao mesmo gênero microbiano.

Figura 7: Amostra de placas de Petri após 20 dias incubação, com concentrações 1 % (esquerda), 2 % (direita) e 3 % (centro).

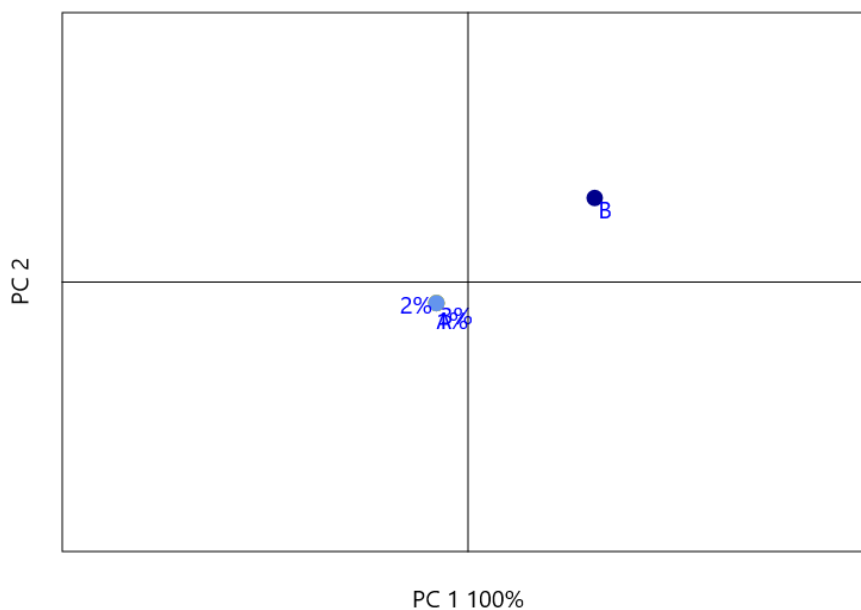


Fonte: A autora, 2023

5.4. Análise estatística

Os resultados das análises microbiológicas foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) com o objetivo de determinar qual seria o tempo (variável) que mais interferiu na diferenciação das amostras. Assim, a estatística multivariada foi aplicada para cada conjunto de tempo: Tempo inicial (zero dias) e tempo 5 (Figura 8); Tempos 0, 5 e 10 dias (Figura 9); Tempos 0, 5, 10 e 15 dias (Figura 10); e, finalmente, Tempos 0, 5, 10, 15 e 20 (Figura 11).

Figura 8: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial e 5 dias.

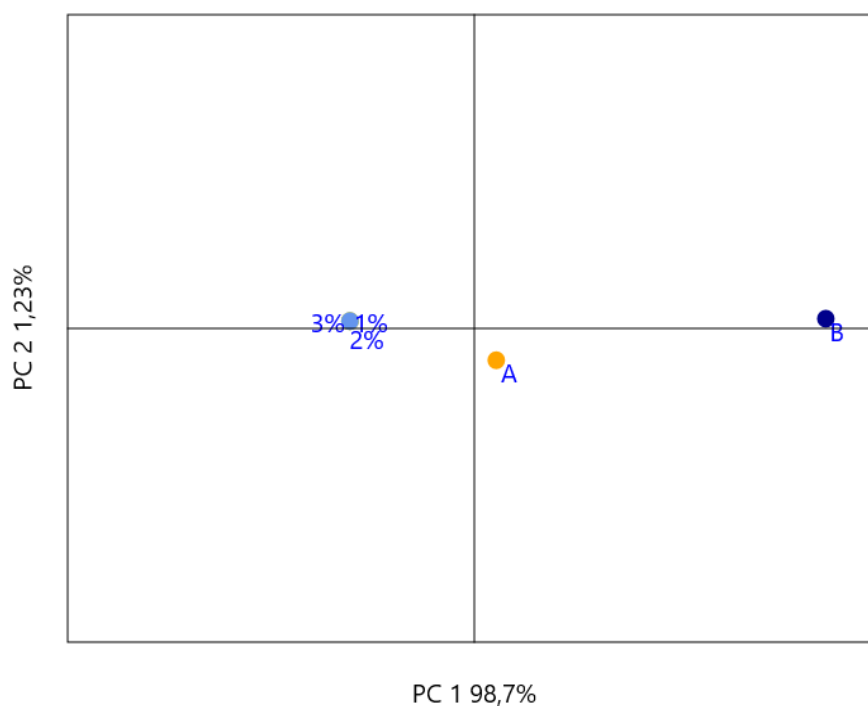


Legenda: B – Amostra sem álcool e sem óleo essencial de orégano; A – Amostra com álcool de cereais; 1% - Amostra contendo 1% de óleo essencial de orégano; 2% - Amostra contendo 2% de óleo essencial de orégano; 3% - Amostra contendo 3% de óleo essencial de orégano.

Fonte: A autora (2023).

A Figura 8 demonstra o acompanhamento das amostras durante cinco dias. É possível notar que a amostra B se diferenciou das demais por apresentarem uma contagem de bolores e leveduras maior durante esse tempo. Cabe ressaltar que a PC 1 explicou 100% da variabilidade dos dados e que a variável Dia 5 apresentou correlação superior a 0,95 (com a PC 1), o que indica boa confiabilidade dos resultados apresentados.

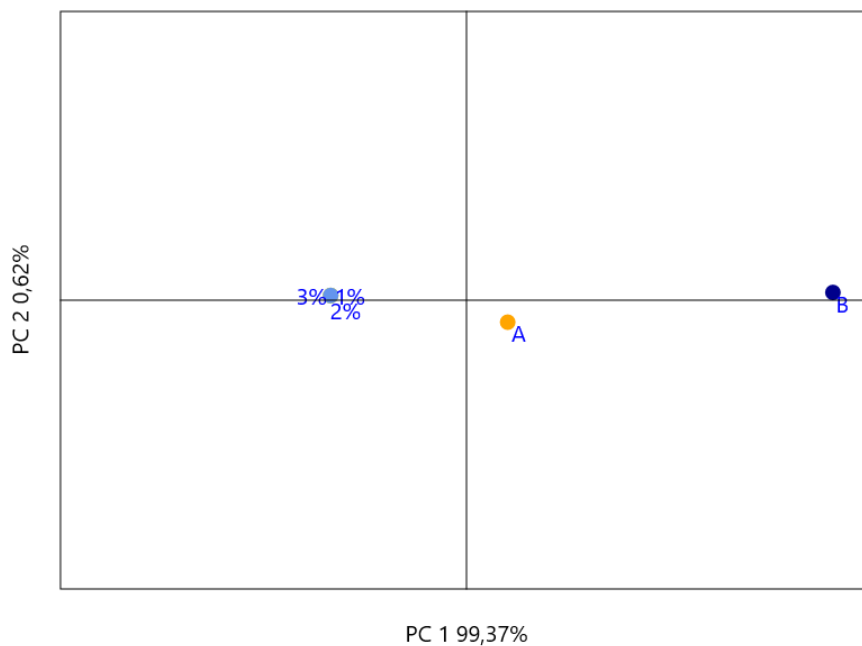
Figura 9: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial, 5 e 10 dias.



Legenda: B – Amostra sem álcool e sem óleo essencial de orégano; A – Amostra com álcool de cereais; 1% - Amostra contendo 1% de óleo essencial de orégano; 2% - Amostra contendo 2% de óleo essencial de orégano; 3% - Amostra contendo 3% de óleo essencial de orégano.
Fonte: A autora (2023).

Na Figura 9 está apresentado o acompanhamento das amostras durante dez dias. Nesse gráfico é possível perceber que as amostras A e B começam a se diferenciar significativamente das demais. Isso demonstra uma tendência de que a amostra A, assim como a amostra B, começou a se deteriorar. Nessa análise multivariada, a PC 1 explicou 98,7% da variabilidade dos dados e as variáveis Dia 5 e Dia 10 apresentaram correlação superior a 0,90 (com a PC 2 e PC 1; respectivamente).

Figura 10: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial, 5,10 e 15 dias.

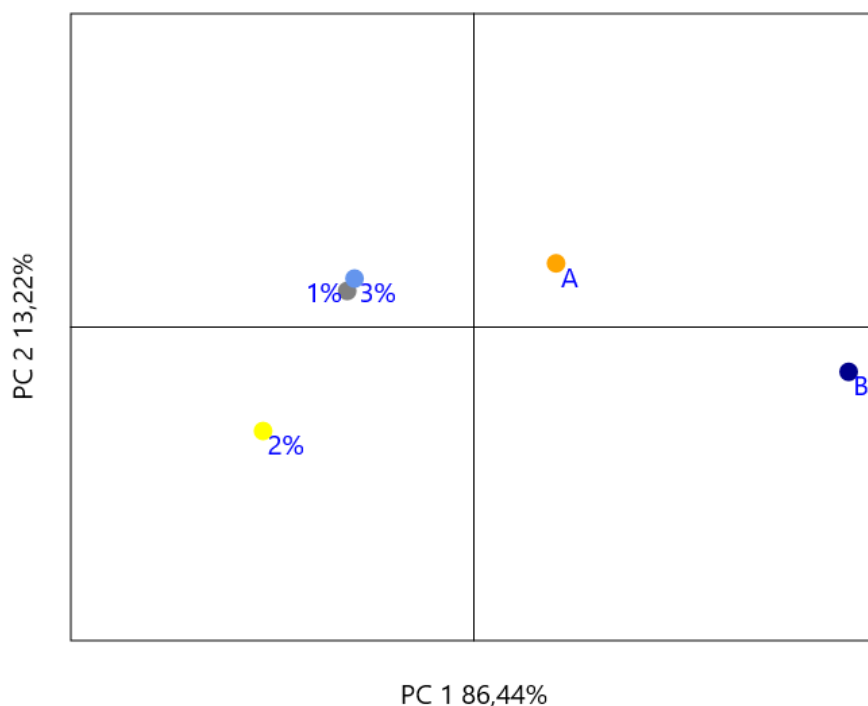


Legenda: B – Amostra sem álcool e sem óleo essencial de orégano; A – Amostra com álcool de cereais; 1% - Amostra contendo 1% de óleo essencial de orégano; 2% - Amostra contendo 2% de óleo essencial de orégano; 3% - Amostra contendo 3% de óleo essencial de orégano.

Fonte: A autora (2023).

A evolução das amostras ao longo de 15 dias está representado na Figura 10. Essa imagem apresenta um comportamento muito semelhante à Figura 9, o que indica que entre 10 e 15 dias não houve uma diferença significativa no padrão microbiológico. Nessa análise, a PC 1 explicou 99,3% da variabilidade dos dados. A variável Dia 5 apresentou correlação superior à 0,95 com a PC 2 enquanto que a variável Dia 15 apresentou correlação de 0,77 com a PC 1.

Figura 11: Análise de Componentes Principais (PCA) do tempo inicial, 5, 10, 15 e 20 dias.



Legenda: B – Amostra sem álcool e sem óleo essencial de orégano; A – Amostra com álcool de cereais; 1% - Amostra contendo 1% de óleo essencial de orégano; 2% - Amostra contendo 2% de óleo essencial de orégano; 3% - Amostra contendo 3% de óleo essencial de orégano.

Fonte: A autora (2023).

Os dados obtidos na análise de componentes principais desde o tempo inicial até o tempo final de 20 dias estão expostos na Figura 11, onde é observado que as amostras B, A e 2 % tiveram um comportamento distinto das amostras 1 % e 3 %. Isso se justificativa porque as amostras 1 e 3 % tiveram resultados semelhantes ao longo tempo, enquanto que as amostras A e B apresentaram contagens elevadas de bolores e leveduras. Já a amostra 2 % apresentou o melhor efeito inibitório contra bolores e leveduras, o que justifica sua separação das demais amostras avaliadas. Nessa análise, a PC 1 explicou sozinha 86,44 % da variabilidade dos dados. Juntas, PC 1 e PC 2 explicaram 99,66 %, o que demonstra grande confiabilidade dos dados apresentados. A variável Dia 15 apresentou correlação de 0,71 com a PC 1 enquanto que a variável Dia 20 apresentou correlação de 0,90 com a PC 2.

6. CONCLUSÃO

A massa de pizza elaborada apresentou características desejáveis tanto em aspectos sensoriais como nas análises físico-químicas, obtendo valores de pH e umidade próximos aos encontrados na literatura.

A aplicação do óleo essencial de orégano apresentou ótimos resultados mesmo na menor concentração utilizada, podendo aumentar a vida de prateleira em até 12 dias. Cabe destacar que a aspersão das massas de pizza com solução contendo 2 % de óleo essencial apresentou o melhor resultado, após os 20 dias de acompanhamento as contagens de bolores e leveduras estavam dentro do limite preconizado pela legislação brasileira.

Diante dos resultados apresentado nesse estudo, o uso do óleo essencial de orégano, pode ser uma alternativa para a substituição de conservantes sintéticos. Para estudos futuros, é sugerido a realização de análises sensorial para avaliar a aceitação do produto.

REFERÊNCIAS:

ARAÚJO, M. M. D.; LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, 2016.

BARROS, N. V. A.; SERRA, J. C.; MOURA, R. A.; SOUSA, P. V. L.; CAVALCANTE, R. M. S. Desenvolvimento de Massa de Pizza Enriquecida com Hibisco. **Ensaio e Ciência**, v. 24, p. 504-510, 2020.

BHARTI, V., VASUDEVA, N. *Oreganum vulgare* Linn. leaf: An Extensive Pharmacognostical and Phytochemical Quality Assessment. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 3, p. 277-281, aug. 2013.

BOTRE, D. A.; SOARES, N. F. F.; ESPITIA P. J. P.; SOUSA S.; RENHE I. R. T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, v. 57, n.3, p. 283-291, mai/jun, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 8, de 2 de junho de 2005. **Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo**. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 3 jun. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. Brasília (DF), 1018p, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Listas de Padrões Microbiológicos Para Alimentos**. Instrução Normativa nº 60, Brasília (DF), 23 dez 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Enriquecimento Obrigatório do Sal com Iodo e das Farinhas de Trigo e de Milho com Ferro e Ácido Fólico Destinados ao Consumo Humano**. Resolução da Diretoria Colegiada nº 604, Brasília (DF), 10 fev. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa IN Nº 211, DE 1º DE MARÇO DE 2023. **Aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia**. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 8 mar. 2023

BREWER, M.S; REINHARD, M.; SCHMIDT, S.; POTTER, S. M.; BOND, H. Sensory and physical characteristics of consumer-acceptable lower-fat pizza for food **Foodservice Research International**, v. 7, p. 149-169, dez. 1993.

CAMPELO, D. A. V.; SOUZA, M. L. R.; MOURA, L. B.; XAVIER, T. O.; YOSHIDA, G. M.; GOES, E. S. R.; MIKCHA, J. M. G. Addition of different tuna meal levels to pizza dough. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, nov. 2017.

CÍSAROVÁ, M.; HLEBA, L.; TANCINOVÁ, D.; FLORKOVÁ, M.; FOLTINOVÁ, D.; CHAROUSOVÁ, I.; VRBOVÁ, K.; BOZIK, M.; KLOUCEK, P. Inhibitory effect of essential oils from some *Lamiaceae* species on growth of *Eurotium spp.* Isolated from bread. **Journal Of Microbiology Biotechnology And Food Sciences**, v. 8, p. 857-862, out. 2018.

CÍSAROVÁ, M.; HLEBA, L.; MEDO, J.; TANCINOVÁ, D.; MASKOVÁ, Z.; CUBON, J.; KOVÁCIK, A.; FOLTINOVÁ, D.; BOZIK, M.; KLOUCEK, P. The in vitro and in situ effect of selected essential oils in vapour phase against bread spoilage toxicogenic *aspergilli*. **Journal Pre-proof**, v. 110, nov. 2019.

CLEMENTE I.; AZNAR M.; NERÍN C. Synergistic properties of mustard and cinnamon essential oils for the inactivation of foodborne moulds in vitro and on Spanish bread. **International Journal of Food Microbiology**, v. 298, p. 44-50, mar. 2019.

COPPOLA, S.; PEPE, O.; MAUREIELLO, G. Effect of leaving microflora on pizza dough properties. **Journal of Applied Microbiology**, v.85, p. 891-897, 1998.

DOSSIÊ FARINHA MIRELLA: Pizza. Disponível em: http://insumos.com.br/pizzas_e_massas/materias/300.pdf. Acesso em: 17 jul. 2021.

FREIRE, F. C. O. A deterioração fungica de produtos de panificação no Brasil. **Comunicado Técnico/Embrapa Agroindustria Tropical**, Fortaleza (CE), 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/907492/1/COT11010.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2021

GISSLEN W. **Panificação E Confeitaria Profissionais**. Editora Manole, Barueri (SP), 5ªed. 144p, 2011.

GOESAERT, H.; BRIJS K.; VERAVERBEKE W.S.; COURTIN C. M.; GEBRUERS K.; DELCOUR J. A. Wheat flour constituents: how they impact breadquality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 12-30, mar. 2005.

GONÇALVES, N. D. **Encapsulação de óleo essencial de tomilho e avaliação como potencial ingrediente funcional tecnológico**. Orientadora: Ana Silvia Prata Soares Dissertação (Mestrado) - Universidade estadual de campinas - Faculdade de ciências aplicadas, Limeira (SP) 2016.

HERRAS-MOZOS, R.; MAURIEL-GALET, V.; LÓPEZ-CARBALOLO, G.; CATANÁ, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R. Development of optimization of natifungal packng for sliced pan loaf based on garlic as active agent and bread aroma as aroma corrector. **International Journal of Food Microbiology**. v. 290, p. 42-48, 2019.

HU, F.; TU, X. F.; THAKUR, K.; HU, F.; LI, X. L.; ZHANG, Y. S.; ZHANG, J. G.; WEI, J. G. Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, sep. 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KHAYOON, W.S.; SAAD, B.; YAN, C.B.; HASHIM, N.H.; ALI, A.S.M.; SALLEH, M.I.; SALLEH, B. Determination of aflatoxins in animal feeds by HPLC with multifunctional column clean-up. **Food Chemistry journal**. v. 118, p. 882-886, 2010.

LAI, H.M; LIN, T. C. **Bakery Products**. Editora Y.H. HUI, Handbook of Food Science, Technology and Engineering, v. 4, Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

MATHEWSON, P. R. Enzymatic activity during bread baking. **Cereal Foods World**, v. 45, p. 98-101, 2000.

MELINI, V.; MELINI, F. Strategies to extend bread and GF bread shelf-life: From sourdough to antimicrobial active packaging and nanotechnology. **Fermentation**, v. 4, p. 1-18, 2018.

MENDES, P. D. S. **Avaliação da atividade antifúngica da curcumina sobre fungos deteriorantes do pão**. Orientadora: Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini, TCC (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná -Campus De Campo Mourão, Campo Mourão (PR), 2017.

PECIVOVA, P.; BURESOVA, I.; BILKOVA, H. The influence of monoacylglycerol and L-glutamic acid on the viscoelastic properties of whe flour dough and sensory

characteristics of French loaf product. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 13, p. 2282-2288, 2010.

PINHO, B. H. DA S.; MACHADO, M. I. F.; FURLONG, E. B. Propriedades físico-químicas das massas de pizza semiprontas e sua relação com o desenvolvimento de bolores e leveduras. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, p. 35-41, 2001.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. Editora Springer, 4ª ed. 239 p, 2009.

PROBST, S. D. I. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação e avaliação de potencial sinérgico**. Orientadora: Ary Fernandes Junior, Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista - Campus de Botucatu. Botucatu (SP), 2012.

PULICI, P. M. M. **Avaliação da resposta do uso do óleo essencial de orégano comparado com promotores de crescimento convencionais e anticoccidianos no desempenho de frangos de corte**. Orientadora: Ricardo de Albuquerque, Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga (SP), 2012.

RIBEIRO, S. M.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *croton* spp. da caatinga. **Iheringia**, Série Botânica, v. 22, p. 31-38, mai, 2018.

ROSELL, C. M.; SANTOS, E. Impact of fibers on physical characteristics of fresh and staled bake off bread. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 2, p. 273-281, 2010.

RUDRAMURTHY S. M.; PAUL R. A.; CHAKRABARTI; MOUTON J. W.; MEIS J. F. Invasive *Aspergillosis* by *Aspergillus flavus*: *Epidemiology, Diagnosis, Antifungal Resistance, and Management*. **Journal of Fungi**. v. 5, p. 55, July 2019.

SILVA, S. E. R. **Decomposição dos alimentos: ação dos micro-organismos**. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Educação: Métodos e Técnicas de Ensino, Pós Graduação, Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UFPR- Campus Medianeira, Medianeira (PR), 2012.

SILVA, N. A. B.; SILVA, J. C.; SILVA S. L. R.; GONÇALVES A. C. A.; SILVA, W. A.; PIRES, C. V.; TROMBETE, F. M. Desenvolvimento e avaliação sensorial de massa de pizza sem glúten, fonte de fibras e adicionada de psyllium. **Caderno de Ciências Agrárias**. v. 11, p. 01-08, Dez, 2019.

SILVA, N; et al. **Manual de Métodos e Análises Microbiológicas de Alimentos e Água**. São Paulo: Blucher, 6 ed.; 2017.

SILVEIRA, M. P. **Desempenho antifúngico de óleos essenciais de canela, cravo e louro em bolores de pães de forma integrais**. Orientadora: Marcio Schmiele e Franciele Maria Pelissari Molina, Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina (MG), 2019.

SLUIMER, P. **Principles of breadmaking: functionality of raw materials and processing steps**. American Association of Cereal Chemists. Saint Paul, 4^a ed., 212 p, 2005.

SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.M.; LIMA E. O. Sensitivity of Spoiling and Pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 527-532. jul. 2006

TAKAHASHI, J. A.; LIMA, G. S.; SANTOS, G. F.; LYRA, F.H.; SILVA-HUGHES, A. F.; GONÇALVES, F. A. G. Fungos Filamentosos e Química: Velhos Conhecidos, Novos Aliados. **Revista Virtual de Química** v. 9, p. 2351-2382, nov./dez. 2017.

WANG, S. H.; OLIVEIRA, M. F.; COSTA, P. S.; ASCHERI, J. L. R.; ROSA, A. G. Farinhas de trigo e soja pré-cozidas por extrusão para massas de pizza. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília (DF), v. 40, n. 4, p. 389-395, 2005.

WILLIAMS, T.; PULLEN, G. **Functional Ingredients**. In: **Stanley P. Cauvain, Linda S. Young (Eds)**. Technology of Breadmaking. New York, 2^a ed. 397 p, 2007.