Recital

Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara/MG.

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) E CRAVO (*SYZYGIUM AROMATICUM*) EM PÃO DE FORMA

Antifungical activity of essencial oils from rosemary **(Rosmarinus officinalis)** ***and clove*** **(Syzygium aromaticum)** ***in loaf bread***

Aline Ferreira SANTOS
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – Campus Salinas
ferreiraaline1312@gmail.com

Matheus Firmino JARDIM
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – Campus Salinas
matheusjardcmurta@gmail.com

Monique Silveira RAMOS
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – Campus Salinas
moniqueramos1207@gmail.com

Iuri Procópio Castro BRITO
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – Campus Salinas
iuripcb@gmail.com

Catrine ALMEIDA
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – Campus Salinas
catrineifsal@gmail.com

Bruna Castro PORTO
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – Campus Salinas
bruna.porto@ifnmg.edu.br

DOI: https://doi.org/10.46636/recital.v3i2.160

Resumo

Pão de forma é um produto que possui alta atividade de água, o que propicia uma maior probabilidade à deterioração microbiana, sendo os fungos os principais microrganismos causadores da redução de sua vida útil. Esse trabalho objetivou avaliar a atividade antifúngica de dois conservantes naturais, óleos essenciais de alecrim e cravo, em comparação a um conservante químico amplamente utilizado em pães, o sorbato de potássio. Além de avaliar o teor de umidade e a atividade de água. Para isso, pães de forma foram produzidos, submetidos a tratamento por aspersão com os três conservantes e tiveram as contagens de fungos filamentosos e leveduras determinadas nos tempos 0, 8 e 16 dias. O teor de umidade e atividade de água dos pães foram obtidos no tempo 0 e observou-se que os resultados estavam de acordo com o encontrado na literatura. Notou-se que o óleo essencial de cravo apresentou atividade antifúngica semelhante ao sorbato de potássio, com menor contagem de fungos ao longo do tempo, quando comparado ao óleo de alecrim e controle. Sendo assim, pode-se concluir que o óleo essencial de cravo é um substituinte em potencial para o sorbato de potássio como conservante.

Palavras-chave: Deterioração de alimentos. Controle do crescimento de fungos. Conservante alimentício natural.

Abstract

Loaf bread is a product that has high water activity, which provides a greater probability of microbial deterioration, and fungi are the main microorganisms that cause its shelf life reduction. This work aimed to evaluate the antifungal activity of two natural preservatives, rosemary essential oil and clove essential oil, compared to a chemical preservative widely used in bread, potassium sorbate, and evaluating the moisture content and water activity. Therefore, loaf breads were produced, spray-treated with the three preservatives and had the filamentous fungi and yeast counts determined at 0, 8 and 16 days. The moisture content and water activity of breads were obtained at time 0 and it was observed that the results were in agreement with those found in the literature. It was noted that the clove essential oil presented antifungal activity similar to potassium sorbate, with lower fungal counts over the time when compared to rosemary essential oil and control. Thus, it can be concluded that clove essential oil is a substitute in potential for potassium sorbate as an additive.

Keywords: Food spoilage. Control of fungal growth. Natural food preservative.

INTRODUÇÃO

O pão é um dos alimentos que esteve presente nos primórdios da história da humanidade. Arqueólogos encontraram vestígios que indicavam que a produção de pão ocorria 10.000 a.C. em território onde hoje se localiza a Suíça. Entretanto, esse alimento foi introduzido no Brasil somente no século XIX por meio de imigrantes italianos (FREIRE, 2011). A França foi um dos países que mais influenciou na panificação. Como exemplo disso, tem-se o pão francês, produto amplamente difundido no mundo (SEBRAE, 2017).

As padarias fazem parte de um dos principais canais de distribuição de alimentos do Brasil, visto que existem 63,2 mil panificadoras no mercado. Além de gerar 700 mil empregos diretos, 245 mil atuam diretamente na produção dos alimentos (SEBRAE, 2017). Estima-se que 76% e 98% dos brasileiros consomem pão e produtos de panificação no café da manhã, respectivamente. Em suma, o consumo per capita de pão pelos brasileiros chega a 22,61 kg por ano (SEBRAE, 2017).

A deterioração de pães ocorre, principalmente, pela atuação de fungos filamentosos em virtude das características intrínsecas desse produto, como pH que varia de 5,5 a 6,0, e atividade de água de 0,95 a 0,98 (GARCIA; BERNARDI; COPETTI, 2019). Esse processo de deterioração pode ser iniciado antes da produção do pão, caso os ingredientes utilizados na formulação estejam contaminados (GARCIA; BERNARDI; COPETTI, 2019). Durante o processo de produção do pão, as principais etapas que colaboram para o desenvolvimento de fungos são o armazenamento inadequado da matéria prima, a fermentação e o armazenamento do produto final (GARCIA; BERNARDI; COPETTI, 2019).

O desenvolvimento de fungos em pão pode causar prejuízos econômicos ao produtor tanto pela rejeição sensorial ao produto quanto por impactos na saúde dos consumidores, já que esses microrganismos podem produzir substâncias tóxicas conhecidas por micotoxinas (SEBRAE, 2017; GARCIA; BERNARDI; COPETTI, 2019). Essas micotoxinas apresentam uma variedade de efeitos agudos e crônicos, tais como carcinogenicidade, neurotoxicidade e prejuízos vinculados a reprodução (PEREIRA; FERNANDES; CUNHA, 2012).

Com a finalidade de prolongar a vida de prateleira, ao retardar o processo de deterioração precoce dos pães, geralmente, são utilizados conservantes químicos. Esses conservantes objetivam prevenir ou inibir o crescimento microbiano e evitar alterações indesejáveis no produto (GARCIA; BERNARDI; COPETTI, 2019). Contudo, tem-se observado que os consumidores apresentam preocupações quanto a ingestão de aditivos alimentícios por, muitas vezes, também estarem associados a toxicidade (DICKSON-SPILMANN; SIEGRIST; KELLER, 2011). Nesse contexto, a demanda por produtos que utilizam aditivos naturais tem aumentado (POVEDA *et al*., 2018), tornando os óleos essenciais uma das principais alternativas, como conservante natural, para resolução desse problema.

Óleos essenciais são uma mistura de compostos bioativos produzidos a partir do metabolismo secundário de plantas que constantemente são associados à atuação antifúngica, antibacteriana, antiviral, antiparasitária, antioxidante e inseticida (AGUILAR-GONZÁLEZ; PALOU; LOPEZ-MALO, 2015). Reporta-se, na literatura, que os óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) apresentam atividade antibacteriana e antifúngica (AGUILAR-GONZÁLEZ; PALOU; LOPEZ-MALO, 2015; HERNÁNDEZ *et al*., 2016), os quais apresentam como compostos ativos em destaques o 1,8-cineol e eugenol, respectivamente (HERNÁNDEZ *et al*., 2016; KOVÁCS *et al*., 2016).

Nesse contexto, diante do fato de que os fungos são os principais perigos biológicos em pães e que existe uma demanda por produtos mais naturais, os óleos essenciais de cravo e alecrim se tornam uma alternativa para o controle microbiano desses produtos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a efetividade antifúngica de óleos essenciais de alecrim e cravo em pão de forma, como forma de se obter alternativas de conservantes naturais.

1 METODOLOGIA

O desenvolvimento desse trabalho foi conduzido na Padaria e nos Laboratórios de Microbiologia e Análise de Alimentos do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG) – *Campus* Salinas, no período de abril a dezembro de 2019.

1.1 MATERIAL

Todos os ingredientes utilizados na formulação dos pães pertenciam ao mesmo lote e foram adquiridos no mercado varejista de Salinas – MG. O óleo essencial de alecrim (By Samia, Brasil), o óleo essencial de cravo (By Samia, Brasil) e o sorbato de potássio (Rica Nata, Brasil) foram adquiridos em comércio eletrônico.

1.2 ELABORAÇÃO DOS PÃES

Os pães utilizados nesse trabalho foram produzidos em duas repetições, na padaria do IFNMG – *Campus* Salinas, cuja formulação está disposta na Tabela 1.

Tabela 1 – Formulação dos pães de forma.

Ingrediente	Quantidade
Farinha de trigo refinada	6,00 kg
Água mineral	2,64 L
Óleo de soja refinado	1,10 L
Açúcar cristal	0,44 kg
Fermento biológico seco	0,11 kg
Sal refinado iodado	0,14 kg

Fonte: Próprio autor.

Primeiramente, todos os ingredientes foram devidamente pesados em uma balança (Micheletti, Brasil), de acordo com as quantidades descritas na Tabela 1. Em uma bacia plástica previamente higienizada, adicionou-se água mineral morna, açúcar e fermento biológico. Os ingredientes foram homogeneizados e a mistura foi mantida sem agitação por 10 min. a fim de hidratar e ativar as propriedades do fermento. Em seguida, adicionou-se a mistura, óleo de soja refinado e sal refinado em uma batedeira (Braesi, Brasil), e homogeneizou-se os ingredientes por 1 minuto (velocidade 1). Posteriormente, adicionou-se aos poucos a farinha de trigo e manteve-se nova bateção por 15 min. até atingir o ponto ideal, momento em que a massa estava homogênea e desprendeu-se facilmente do equipamento.

Imediatamente, a massa foi sovada em um cilindro sovador (G-Pãniz, Brasil), até obtenção de uma massa uniforme, lisa e elástica. Em uma superfície lisa, polvilhou-se farinha de trigo e colocou-se a massa. A massa foi cortada em 32 pequenos pedaços, modelada em formato cilíndrico, colocada em forma retangular de alumínio (36 cm x 25 cm x 5 cm), e deixada para descansar por aproximadamente 30 min., até aumentar em duas vezes o tamanho. O processo de cocção foi realizado em forno industrial (Venâncio, Brasil) pré-aquecido a uma temperatura média de 130 °C por 30 min. Por fim, os pães foram resfriados em temperatura ambiente.

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 3, n. 2, maio/ago. 2020.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

Após o resfriamento, os 32 pães foram divididos em quatro grupos contendo oito pães. Cada grupo recebeu um dos tratamentos descritos na Tabela 2, foi acondicionado em embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD) identificadas e fechadas com fita adesiva, e armazenado por até 16 dias.

Tabela 2 – Tratamentos utilizados para inibição do desenvolvimento de fungos em pães de forma.

Tratamento	**Concentração**	**Aplicação**	
		Local	**Método**
Controle	-	-	-
Sorbato de potássio	10% m/v	Superfície (6 lados)	Aspersão
Óleo de alecrim	100%	Superfície (6 lados)	Aspersão
Óleo de cravo	100%	Superfície (6 lados)	Aspersão

Fonte: Próprio autor.

Os pães com diferentes tratamentos foram analisados nos dias 0 (dia em que os pães foram produzidos), 8 e 16 quanto à concentração de fungos (fungos filamentosos e leveduras) a fim de avaliar o efeito antifúngico dos tratamentos realizados. Os pães controle e tratados também foram submetidos à análise físico-químicas de umidade e atividade de água.

1.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas em duplicata no Laboratório de Microbiologia do IFNMG – *campus* Salinas. As metodologias utilizadas foram descritas por Silva *et al*. (2017), com algumas modificações que foram descritas em cada método.

1.4 DETERMINAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E LEVEDURAS

Primeiramente, a casca de toda a superfície do pão foi cortada em pequenos pedaços, e pesou-se 25 g em balança semianalítica (resolução: 0,001 g) modelo AD200 (Marte, Brasil), que foram vertidos em um erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada para obtenção da diluição 10^{-1}. Para as demais diluições, 1 mL da diluição anterior foi transferido para 9 mL de água peptonada 0,1% para produzir as diluições 10^{-2} e 10^{-3} com auxílio de pipetador automático e ponteira (1 mL) previamente esterilizada. Transferiu-se 0,1 mL de cada diluição para placas de ágar dicloran rosa de bengala cloranfenicol (DRBC) pelo método em superfície (*spread plate*) com auxílio de pipetador automático e ponteira (200 µL) previamente esterilizada. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa, sem inverter, à temperatura de 25 °C de 3 a 5 dias. Por fim, realizou-se a contagem das placas com auxílio de um contador de colônias, dando preferência àquelas que continham de 10 a 150 unidades formadoras de colônia (UFC).

1.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Foram determinados o teor de umidade e a atividade de água presente nos pães de forma para verificar se estavam em acordo com os valores encontrados na literatura para essa categoria de produto. As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), com algumas modificações que foram descritas em cada método.

1.6 TEOR DE UMIDADE

Inicialmente, placas de Petri foram colocadas para secar em estufa convencional modelo Th50150 (Thoth, Brasil) a 105 °C por 4 h. Em seguida, retirou-se as placas da estufa, colocou-as em dessecador por 30 min. e essas placas foram pesadas quando frias em balança semianalítica modelo AD200 (Marte, Brasil). Posteriormente, aproximadamente 2 g da amostra foram pesados na placa de Petri, e colocou-se as amostras na estufa a 105 °C até a obtenção de peso constante. O teor de umidade foi calculado por meio da Equação 1.

$$\%U = \frac{(M_i - M_f)}{M_i} x100$$

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

1.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA

A atividade de água foi determinada em equipamento Aqualab (BrasEq, Brasil). Inicialmente, calibrou-se o equipamento conforme orientação do fabricante e, em seguida, adicionou-se uma pequena quantidade das amostras em um recipiente de amostragem plástico, introduziu-se o contentor no equipamento e realizou-se a leitura, obtendo-se um valor expresso em porcentagem.

2 RESULTADOS

Na Tabela 3, estão apresentadas as contagens de fungos filamentosos, em ágar DRBC, em pães de forma sob diferentes tratamentos antifúngicos e controle (sem tratamento). Em relação a esses resultados, para o tempo zero e oitavo dia, notou-se o efeito antifúngico dos óleos essenciais (óleo de alecrim e cravo) quando comparados ao controle e ao tratamento com sorbato de potássio.

Em 16 dias, todos os tratamentos apresentaram atividade antifúngica quando comparados às amostras controle, sendo que o óleo de alecrim foi o menos eficiente ($p<0,05$) em relação ao óleo de cravo e o sorbato de potássio, que apresentaram atividade similar ($p>0,05$).

Tabela 3 – Contagem de fungos filamentosos (Log_{10} UFC/g) em ágar DRBC em pão de forma sob diferentes tratamentos antifúngicos (sorbato de potássio, óleo de alecrim e óleo de cravo) e controle (sem tratamento).

Dia	Contagem de fungos filamentosos (Log_{10} UFC/g)			
	Controle	Sorbato de potássio	Óleo de alecrim	Óleo de cravo
0	$2,60^{Aa}$	$3,22^{Aa}$	$2,37^{Ba}$	$2,30^{Ba}$
8	$3,34^{Ab}$	$3,23^{Aa}$	$2,74^{Ba}$	$2,48^{Ba}$
16	$>6,0^{Ac}$	$4,53^{Bb}$	$6,08^{Cb}$	$3,94^{Bb}$

*Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa com relação aos tratamentos (p>0,05) para cada tempo analisado. ** Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa com relação aos tempos (p>0,05) para cada tratamento analisado.

Ao observar o comportamento de cada tratamento em relação ao tempo (Tabela 3), verificou-se que houve um aumento na contagem de fungos nas amostras controle ao longo do período de armazenamento (0, 8 e 16 dias). Por outro lado, para todos os tratamentos investigados no presente estudo, não houve diferença na contagem de fungos nos tempos 0 e 8 dias, somente sendo observado crescimento aos 16 dias, demonstrando sua eficiência como agentes antifúngicos.

Na Tabela 4, estão apresentadas as contagens de leveduras, em ágar DRBC, em pães de forma sob diferentes tratamentos antifúngicos e controle (sem tratamento).

Tabela 4 – Contagem de leveduras (Log_{10} UFC/g) em ágar DRBC em pão de forma sob diferentes tratamentos antifúngicos (sorbato de potássio, óleo de alecrim e óleo de cravo) e controle (sem tratamento).

Dia	Contagem de leveduras (Log_{10} UFC/g)			
	Controle	Sorbato de potássio	Óleo de alecrim	Óleo de cravo
0	$<2,00^{Aa}$	$<2,00^{Aa}$	$2,12^{Ba}$	$<2,00^{Aa}$
8	$4,45^{Ab}$	$<2,00^{Ba}$	$3,76^{Ca}$	$<2,00^{Ba}$
16	$(ND)^{Ac}$	$3,44^{Bc}$	$4,22^{Cb}$	$2,54^{Bb}$

*Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa com relação aos tratamentos (p>0,05) para cada tempo analisado. ** Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa com relação aos tempos (p>0,05) para cada tratamento analisado. ND: contagem não determinada, pois as placas estavam totalmente preenchidas por fungos filamentosos, impossibilitando a identificação de leveduras.

Em relação a Tabela 4, para o tempo zero dia, notou-se que somente na amostra tratada com óleo de alecrim foi observado o desenvolvimento de leveduras. Já para o oitavo dia, apenas o óleo de cravo e o sorbato de potássio apresentaram capacidade antifúngica contra leveduras.

Em relação ao dia 16, todos os tratamentos apresentaram contagem de leveduras, com exceção da amostra controle em que não foi possível identificar devido a grande quantidade de fungos filamentosos. De forma geral, os tratamentos sorbato de potássio e óleo de cravo apresentaram maior atividade contra leveduras não diferenciando entre si.

Ao realizar uma avaliação geral das contagens de fungos filamentosos e leveduras (Tabelas 3 e 4, respectivamente), observa-se que o crescimento dos fungos foi maior ao longo tempo, pois quanto maior o período de armazenamento, maior era o crescimento fúngico e esses microrganismos podem crescer e reproduzir-se infinitamente durante o tempo em que existir fontes nutricionais disponíveis. Diante disso, em todas as amostras em até 8 dias, foi possível de se realizar a contagem. Porém, em 16 dias, apenas as amostras submetidas aos tratamentos com sorbato de potássio, óleo de alecrim e óleo de cravo apresentaram condições adequadas para realizar a quantificação. No entanto, os tratamentos com sorbato de potássio e óleo de cravo apresentaram menores valores de crescimento fúngico, sobressaindo em relação ao óleo de alecrim, sendo notável um maior efeito antifúngico, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Pães submetidos aos tratamentos T1 (controle, sem tratamento), T2 (sorbato de potássio a 10%, m/v), T3 (óleo essencial de alecrim) e T4 (óleo essencial de cravo) após 16 dias de armazenamento.

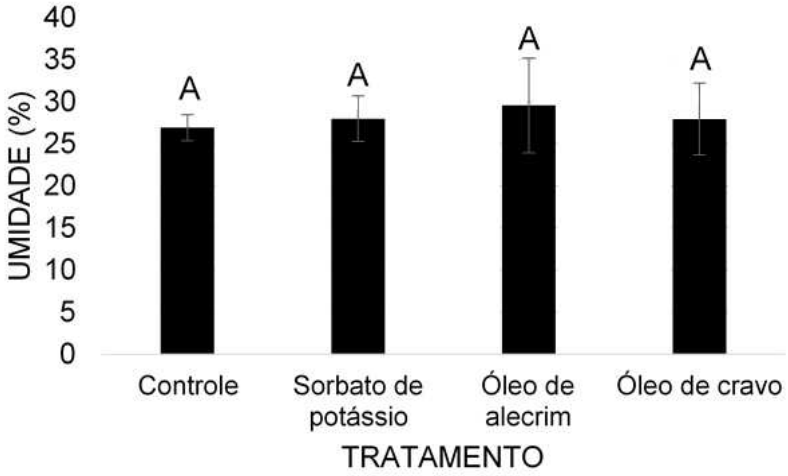


Fonte: Próprio autor.

Na Figura 2, estão apresentados os resultados de umidade dos pães controle e adicionados de conservantes. Nota-se que não houve diferença entre os teores de umidade obtidos.

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 3, n. 2, maio/ago. 2020.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

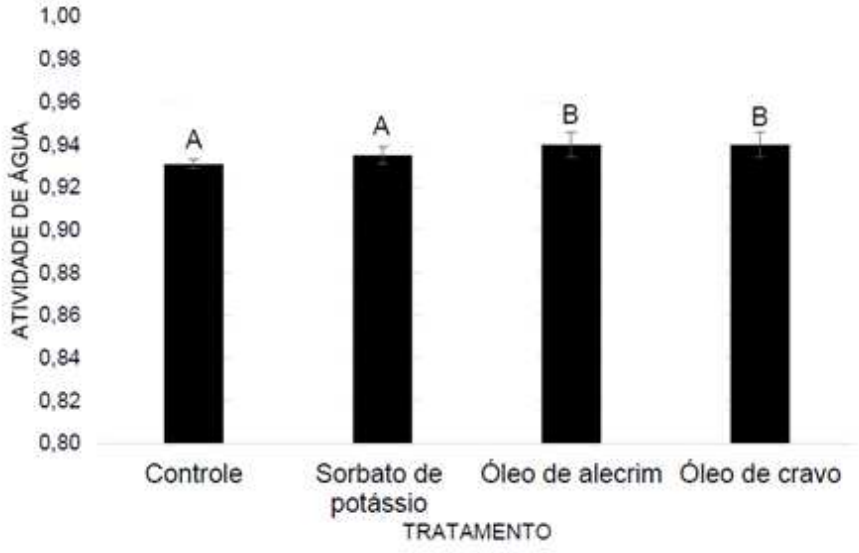
Figura 2 – Umidade dos pães submetidos a tratamentos com sorbato de potássio, óleo de alecrim e óleo de cravo, e controle (sem tratamento).



*Letras iguais indicam que não há diferença significativa com relação aos tratamentos (p>0,05).
Fonte: Próprio autor.

Na Figura 3, estão apresentados os resultados de atividade de água dos pães controle e adicionados de conservantes. Observa-se que os pães tratados com óleo de alecrim e óleo de cravo apresentaram maior atividade de água (ambos com 0,940 ± 0,006), quando comparados aos pães com sorbato de potássio (0,935 ± 0,003) e controle (0,931 ± 0,002).

Figura 3 – Atividade de água dos pães submetidos a tratamentos com sorbato de potássio, óleo de alecrim e óleo de cravo, e controle (sem tratamento).



*Letras iguais indicam que não há diferença significativa com relação aos tratamentos (p>0,05).
Fonte: Próprio autor.

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 3, n. 2, maio/ago. 2020.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

3 DISCUSSÃO

Suhr e Nielsen (2003), em estudo sobre a atividade antifúngica de diferentes óleos essenciais contra fungos deterioradores de pães, notaram que os óleos essenciais de tomilho, canela, mostarda, erva cidreira e cravo possuíram um efeito inibitório mais forte, e mostraram claramente seus efeitos como inibidores de fungos. Já outros óleos essenciais, como o de laranja, sálvia e alecrim foram inibidores fracos, sendo correlacionados negativamente com a inibição de fungos. A inibição máxima de crescimento de fungos pelo óleo de alecrim durante 4-7 dias foi maior de 30% e o seu efeito inibidor de fungos foi perdido após o sétimo dia. Isso também foi observado no presente estudo, pois, nos resultados apresentados nas Tabelas 3 e 4, o óleo de alecrim manteve ou reduziu a concentração de fungos filamentosos até o oitavo dia. Segundo esse mesmo estudo, o óleo essencial de cravo possuiu efeito inibitório contra fungos durante um longo período de tempo. Esse resultado também corrobora com o que foi encontrado no presente trabalho, observando maior poder antifúngico no óleo de cravo.

Em uma pesquisa sobre a composição química e atividade antimicrobiana de óleo essencial de alecrim, Jiang *et al.*, (2011) consideraram que esse óleo possuiu maior atividade contra cepas bacterianas do que contra fungos. Notou-se atividade antifúngica, porém mais acentuada, contra poucas espécies, como *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum* e *Microsporum canis*. Os autores relataram que, para um melhor efeito antifúngico, é necessário utilizar uma maior concentração de óleo essencial de alecrim. Entretanto, no presente estudo foi avaliado seu poder máximo e, mesmo assim, observou-se pouca atividade do óleo essencial de alecrim contra fungos.

Schroder *et al*. (2017) observaram em seus estudos que o óleo essencial de cravo possuiu efeito inibidor para crescimento de fungos das espécies *Ulocladium* sp., *Coprinellus* sp., *Penicillium* sp. *e Aspergillus* sp. Levinskaitė e Paškevičius (2013) utilizaram o método de ensaio de difusão em disco para demonstrar que o óleo de cravo teve eficácia antifúngica maior que outros óleos essenciais de abeto siberiano, cominho, hortelã-pimenta, eucalipto, tomilho-limão e laranja, e um desinfetante IPA 300 (à base de isopropanol) comercialmente disponível. Outro estudo demonstrou que o óleo de cravo foi capaz de prevenir o crescimento de *Aspergillus* spp. e *Trichothecium* spp. por até cinco semanas (YINGPRASERT; MATAN, 2015).

Diante do exposto e das literaturas citadas, nota-se que o presente experimento condiz com o que está disponível na literatura, pois o óleo essencial de cravo foi o conservante que apresentou resultado mais satisfatório e, consequentemente, maior potencial antifúngico, quando comparado ao óleo essencial de alecrim.

Segundo Bernardi (2019), os pães possuem um teor de umidade de aproximadamente 40%, podendo variar de acordo com os ingredientes e o processo de assamento. Vasconcelos *et al.* (2006), ao realizarem análise de umidade em pães de forma, obtiveram resultados que variaram de 31,26% a 36,61%. Os dados obtidos no presente estudo possuem valores inferiores aos encontrados na literatura e a temperatura baixa do forno pode ser uma explicação para esse fenômeno, pois temperaturas menores previnem (ou desaceleram) a formação de uma crosta que impede a saída do vapor de água (SOUZA *et al.*, 2018).

Com relação à legislação brasileira, entre os anos de 1978 a 2005, a umidade dos pães foi controlada, sendo estabelecido inicialmente um limite máximo de 30%. Posteriormente, esse valor foi alterado para 38% e, a partir de 22 de setembro de 2005, essa característica foi extinta (BRASIL, 1978; BRASIL, 2000, apud OLIVEIRA *et al.*, 2011), pois, a partir desse momento,

a RDC n° 263 de 2005, estabelece apenas limites de umidade para farinha, amidos de cereais e farelos, amido ou fécula de batata, e amido ou fécula de mandioca (BRASIL, 2005). Contudo se considerar a menor umidade que já foi estabelecida como limite máximo para pães no Brasil, o presente estudo estaria em acordo.

Segundo Magan, Aldred e Arroyo (2012), a atividade de água em pães varia de 0,93 a 0,98. Dessa forma, os pães produzidos nesse estudo estão de acordo com o informado na literatura.

A maioria das leveduras e fungos filamentosos se desenvolvem em atividade de água mínima de 0,88 e 0,80, respectivamente (HOFFMANN, 2001). Sendo assim, os pães apresentavam condições propícias para o desenvolvimento de fungos em relação à atividade de água. Porém, também possuíam características favoráveis para a atuação do óleo de cravo, pois, segundo Guynot *et al*. (2005), o óleo essencial de cravo possui maior efeito em níveis de atividade de água acima de 0,90. Em seu estudo, os autores notaram que o óleo essencial inibiu o crescimento de fungos em atividade de água acima de 0,90, quando comparado à atividade de água entre 0,80 e 0,85. Uma desvantagem em relação à aplicação de óleo essencial como conservante em alimentos está em seu custo elevado quando comparado aos aditivos químicos.

CONCLUSÃO

Por meio do estudo, foi observado o efeito antifúngico dos tratamentos utilizados nos pães de forma. Foi visível o grande potencial do óleo essencial de cravo como conservante em pães de forma quando comparado aos tratamentos com sorbato de potássio e óleo essencial de alecrim, não somente pela inibição do crescimento de fungos, mas também por ser uma substância natural. Ao comparar os dois óleos essenciais, tanto para fungos quanto para leveduras, o óleo de cravo apresentou um efeito inibitório mais forte, não perdendo esse efeito ao longo dos dias de armazenamento, como foi observado para o óleo de alecrim. A umidade e a atividade de água dos pães de forma estavam em acordo com o encontrado na literatura.

REFERÊNCIAS

AGUILAR-GONZÁLEZ, A. E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against grey mold (*Botrytis cinerea*) in strawberrie. **Innovative Food Science and Emerging Technologie**, Puebla- México, v. 32, p. 181-185, 2015.

BERNARDI, A. O.; GARCIA, M. V.; COPETTI, M. V. Food industry spoilage fungi control through facility sanitization. **Current Opinion in Food Science,** Santa Maria - RS, 2019.

BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Resolução nº.12 de 1978**. Aprova Normas Técnicas especiais, do Estado de São Paulo revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, Poder Executivo, 24 jul. 1978. Seção 1, pt. I.

BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 90 de 18 de outubro de 2000**. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Pão. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 de outubro de 2000. Seção1. p.1.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjI%20wMw%2C%2C. Acesso em: 13 de set. 2019.

DICKSON-SPILLMANN, M.; SIEGRIST, M.; KELLER, C. Attitudes toward chemicals are associated with preference for natural food. **Food Quality and Preference,** Zurich – Switzerland, v. 22, p.149-156, 2011.

FREIRE, F. A deterioração fúngica de produtos de panificação no Brasil. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2011.

GARCIA, M. V.; BERNARDI, A. O.; COPETTI, M. V. The fungal problem in bread production: insights of causes, consequences, and control methods. **Current Opinion in Food Science,** Santa Maria - RS, 2019.

GUYNOT, M. E.; MARÍN, S.; SETÚ, L.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J. Screening for Antifungal Activity of Some Essential Oils Against Common Spoilage Fungi of Bakery Products. **Food Science and Technology International**, 11(1), p. 25-32, 2005.

HERNÁNDEZ, M. D.; SOTOMAYOR, J. A.; HERNÁNDEZ, Á.; JORDÁN, M. J. Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) Oils. **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety.** Murcia – Spain, cap.77, p. 677-688, 2016.

HOFFMANN, Fernando Leite. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil alimentos**, 9(1), p. 23-30, 2001.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª ed. São Paulo, 1020p., 2008.

JIANG, Y.; WU, N.; FU, Y.-J.; WANG, W.; LUO, M.; ZHAO, C.-J.; LIU, X.-L. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Harbin, 32(1), p. 63-68, 2011.

KOVÁCS, J. K.; FELSŐ, P.; MAKSZIN, L.; PÁPAI, Z.; HORVÁTH, G.; ÁBRAHÁM, H...; SCHNEIDER, G. Antimicrobial and virulence-modulating effects of clove essential oil on the foodborne pathogen Campylobacter jejuni. **Applied and Environmental Microbiolog**. 82(20), p. 6158-6166, 2016.

LEVINSKAITĖ, L.; PAŠKEVIČIUS, A. Fungi in water-damaged buildings of vilnius old city and their susceptibility towards disinfectants and essential oils. **Indoor Built Environ**, 22(5), p. 766-775, 2013.

MAGAN, N., ALDRED, D.; ARROYO, M. Mould prevention in bread. Breadmaking**, Woodhead Publishing Limited**, p. 597-613, 2012.

OLIVEIRA, N. M. A. L.; MACIEL, J. F.; LIMA, A. D. S.; SALVINO, É. M.; MACIEL, C. E. P.; OLIVEIRA, D. P. M. N. D.; FARIAS, L. R. G. D. Características físico-químicas e

sensoriais de pão de forma enriquecido com concentrado proteico de soro de leite e carbonato de cálcio. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (Impresso), 70(1), p. 16-22. 2011.

PEREIRA, V. L.; FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C. Micologia em Portugal: Ocorrência e Toxidade. **Acta Farmacêutica Portuguesa**. v. 1. n. 2, 2012.

POVEDA, J. M.; LOARCE, L.; ALARCÓN, M.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; ALAÑÓN, M. E. Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by means of green extraction techniques**. Industrial Crops & Products,** Ciudad Real-Spain, v. 112, p. 617-625, 2018.

SCHRODER, T.; GASKIN, S.; ROSS, K.; WHILEY, H. Antifungal activity of essential oils against fungi isolated from air. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, 23(3), p. 181-186, 2017.

SEBRAE – Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Estudo de mercado – Indústria: Panificação**, 2017.

SILVA, S. D.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. D. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª edição. São Paulo: Blucher, 2017.

SOUZA, Y. G.; SALES, B. F.; ARAÚJO, L. D.; MAIA, H. A. R.; PORTO, B. C. Influência do binômio tempo-temperatura na desidratação de banana prata (*Musa sapientum*) pela técnica de camada em espuma. **Resumos CBCTA 2018.**

SUHR, K.I.; NIELSEN, P.V. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p. 665-7, 2003.

VASCONCELOS, A. C.; PONTES, D. F.; GARRUTI, D. S.; SILVA, A. P. V. Processamento e aceitabilidade de pães de forma a partir de ingredientes funcionais: farinha de soja e fibra alimentar. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, 17(1), p. 43- 49, jan./mar., 2006.

VYTŘASOVÁ, J.; PŘIBÁŇOVÁ, P.; MARVANOVÁ, L. Occurrence of xerophilic fungi in bakery gingerbread production. **International Journal of Food Microbiology**, 72(1-2), p. 91-96, 2002.

YINGPRASERT, W.; MATAN, N.; MATAN, N. Effects of surface treatment with cinnamon oil and clove oil on mold resistance and physical properties of rubberwood particleboards. **European Journal of Wood and Wood Products**. 73(1), p. 103-109, 2015.

Recebido em: *12 de março 2021*

Aceito em: *23 de julho 2021*