

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Eduardo Rafael Possamai Rossatto

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE MICROCÁPSULAS CONTENDO
ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO EM PÃES DE FORMA**

Porto Alegre

2019

Eduardo Rafael Possamai Rossatto

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE MICROCÁPSULAS CONTENDO
ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO EM PÃES DE FORMA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora 1: Prof^ª. Dr^ª. Simone Hickmann Flôres
Orientadora 2: Prof^ª. Dr^ª Roberta Cruz Silveira Thys
Colaborador: Carlos Henrique Pagno

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Possamai Rossatto, Eduardo Rafael
Avaliação do Potencial Antifúngico de Microcápsulas
Contendo Óleo Essencial de Orégano em Pães de Forma /
Eduardo Rafael Possamai Rossatto. -- 2019.
50 f.
Orientador: Simone Hickmann Flôres.

Coorientador: Roberta Cruz Silveira Thys.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Curso de
Engenharia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Microencapsulação. 2. Óleo Essencial de Orégano.
3. Pães de Forma. 4. Atividade Antifúngica. I.
Hickmann Flôres, Simone, orient. II. Cruz Silveira
Thys, Roberta, coorient. III. Título.

Eduardo Rafael Possamai Rossatto

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE MICROCÁPSULAS
CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO EM PÃES DE FORMA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul
como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Aprovada em: 17 de dezembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Simone Hickmann Flores (Orientadora)
Doutora em Engenharia de Alimentos
ICTA/UFRGS

Roberta Cruz Silveira Thys (Co-orientadora)
Doutora em Engenharia Química
ICTA/UFRGS

Letícia da Fontoura Xavier Costa
Mestre em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente
ICTA/UFRGS

Patrícia da Silva Malheiros
Doutora em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente
ICTA/UFRGS

RESUMO

O pão é um dos principais constituintes da dieta de muitas pessoas em todo o mundo, e por ser um produto com alta perecibilidade, a deterioração proveniente de microrganismos resulta em perdas econômicas expressivas. Com a crescente busca por uma alimentação saudável, a substituição de ingredientes e aditivos sintéticos por compostos naturais, que apresentem características funcionais semelhantes, torna-se uma alternativa para esse estilo de vida. O óleo essencial de orégano (OEO) (*Origanum vulgare*) é considerado um antimicrobiano natural por inibir o crescimento de microrganismos, entretanto, os compostos que conferem essa característica ao óleo são voláteis e se degradam facilmente quando expostos a temperaturas elevadas, sendo a microencapsulação uma técnica utilizada com a finalidade de proteger esses compostos e garantir seus efeitos desejados. Neste trabalho, o óleo essencial de orégano foi microencapsulado utilizando 62,5% e 37,5% de goma arábica e maltodextrina, respectivamente, como materiais de parede, com a finalidade de gerar uma camada protetora ao óleo, reduzindo sua volatilidade e suscetibilidade à degradação, sendo avaliada a eficiência de encapsulação e a determinação das propriedades térmicas das microcápsulas. Pães de forma foram produzidos com 0,1%, 0,2% e 0,5% de microcápsulas contendo OEO e comparadas com formulação contendo 0,1% e 0,2% do antifúngico artificial propionato de cálcio. Foi realizada a análise de crescimento fúngico, análise de textura, volume específico e análise sensorial dos pães. Como resultados, obteve-se alta eficiência de encapsulação do OEO (84,2%), o potencial antifúngico em pães foi comprovada por análise visual ao longo de 15 dias, os resultados do perfil de textura demonstraram maiores variações devido ao processo natural de retrogradação do amido, enquanto o volume específico não apresentou diferença significativa entre as formulações. Em relação à análise sensorial dos pães, observou-se que pães com 0,1% microcápsulas de OEO obtiveram acima de 85% de aceitação global.

Palavras-chave: Microencapsulação. Óleo Essencial de Orégano. Pães de Forma. Atividade Antifúngica.

Evaluation of Antifungal Potential of Microcapsules Containing Oregano Essential Oil in Bread

ABSTRACT

Bread is a major constituent of the diet of many people around the world, and as a product with high perishability, spoilage from microorganisms results in significant economic losses. The growing trend for healthy food, lead the replacement of ingredients and synthetic additives with natural compounds that have similar functional characteristics as an alternative to this lifestyle. Oregano Essential Oil (*Origanum vulgare*) is considered a natural antimicrobial for its qualities in inhibiting microbiological growth, however, the compounds that confer this quality to the oil are volatile and easily degrade when exposed to high temperatures. For this reason, the technique of microencapsulation might protect these compounds and ensure their desired effects. The oregano essential oil was microencapsulated using 62.5% and 37.5% of gum arabic and maltodextrin, respectively, as wall materials, in order to generate a protective oil layer and reduce volatility and susceptibility to degradation. Encapsulation efficiency and thermal properties of microcapsules were evaluated. Breads were produced with 0.1%, 0.2% and 0.5 % of OEO-containing microcapsules and were compared with formulation containing 0.1% and 0.2% of artificial antifungal calcium propionate. Analyses of fungal growth, texture, specific volume and sensory analysis of the bread samples were performed. High OEO encapsulation efficiency (84.2%) was obtained and the antifungal potential in the samples was confirmed by analysis over 15 days. The texture profile analysis showed greater variations due to the natural process of starch retrogradation, while the specific volume did not show significant difference between the formulations. Regarding sensory evaluation of breads, it was observed that breads with 0.1% of OEO microcapsules obtained above 85% of acceptance index.

Keywords: Microencapsulation. Oregano Essential Oil. Bread. Antifungal Activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Estrutura do timol e carvacrol, principais constituintes do OEO.	19
Figura 3.2	Alguns modelos de microcápsulas. (A): matriz; (B): microcápsula simples; (C): irregular; (D): duas paredes; (E): vários núcleos; (F): agrupamento de microcápsulas.....	20
Figura 3.3	Representação do processo de encapsulação por spray dryer.....	22
Figura 4.1	Analisador termogravimétrico.	26
Figura 4.2	Texturômetro.....	28
Figura 5.1	Análise térmica.(A): Microcápsula vazia ; (B): Microcápsula contendo OEO; (C): OEO	31
Figura 5.2	Gráficos gerados através do acompanhamento visual do aparecimento de bolores em 12 fatias de pão contendo propionato de cálcio ou OEO microencapsulado como agente de conservação.	33
Figura 5.3	Formulação com 0,5% de microcápsula contendo OEO.	33
Figura 5.4	Fatias de pães elaborados com 0,1% (A), 0,2% (B) e 0,5% (C) de microcápsulas de OEO, após 7 dias.	34
Figura 5.5	Fatias de pães elaborados com 0,5% de microcápsulas de OEO (A), 0,1% de propionato de cálcio (B) e 0,2% de propionato de cálcio (C), após 7 dias.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Principais métodos de produção de microcápsulas	21
Tabela 3.2 Principais agentes encapsulantes utilizados na indústria de alimentos.	23
Tabela 5.1 Parâmetro de coesividade dos pães avaliados.....	36
Tabela 5.2 Parâmetro de elasticidade (mm) dos pães avaliados.....	37
Tabela 5.3 Parâmetro de firmeza (g) dos pães avaliados.....	38
Tabela 5.4 Parâmetro de resiliência dos pães avaliados.....	38
Tabela 5.5 Parâmetro de gomosidade (g) dos pães avaliados.	39
Tabela 5.6 Parâmetro de mastigabilidade ($\text{gf}\cdot\text{mm}^{-1}$) dos pães avaliados.	39
Tabela 5.7 Valores de volume, massa e volume específico dos pães.	40
Tabela 5.8 Média dos atributos avaliados.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OEO	Óleo Essencial de Orégano
PROP	Propionato de Cálcio
FDA	Food and Drug Administration
m ³	Metros Cúbicos
cm ³	Centímetros Cúbicos
v	Volume
ve	Volume Específico
m	Massa
mg	Miligramas
g	Gramas
mL	Mililitros
μL	Microlitros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Panificação	13
3.2 Antimicrobianos Usados em Panificação	14
3.3 Antimicrobianos Naturais Usados em Panificação	15
3.3.1 Óleo Essencial de Orégano (OEO)	18
3.4 Microencapsulamento	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Obtenção das Microcápsulas	24
4.2 Caracterização das Micropartículas	24
4.2.1 Eficiência de Encapsulação	24
4.2.2 Propriedades Térmicas	25
4.3 Produção do Pão	26
4.3.1 Análise de Crescimento Fúngico	27
4.3.2 Textura	27
4.3.3 Volume Específico	28
4.3.4 Análise Sensorial	28
4.4 Análise Estatística	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Caracterização das Micropartículas	30
5.1.1 Eficiência de Encapsulação	30
5.1.2 Propriedades Térmicas	30
5.2 Caracterização do Pão	31
5.2.1 Análise de Crescimento Fúngico	31
5.2.2 Textura	35
5.2.3 Volume Específico	40
5.2.4 Análise Sensorial	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

A fabricação de pão, desde seu primórdio exclusivamente artesanal, acompanhou o desenvolvimento da espécie humana, sendo mencionado no decurso da história como produto de grande importância para diferentes povos, nas mais diversas regiões do mundo. Tal herança é evidenciada atualmente com o destaque que a indústria de produtos panificados ocupa na alimentação humana, sendo, atualmente, um dos produtos mais consumidos internacionalmente (NASCIMENTO et al., 2019).

O intercâmbio cultural proporcionou aos consumidores que se tornassem cada vez mais cosmopolitas, com as influências das viagens internacionais e do intercâmbio cultural, resultou numa apreciação mais ampla dos diferentes tipos de pão. No entanto, o consumo em grandes proporções evidencia a problemática do desperdício, que, muitas vezes, é decorrente da ação microbiana. Estima-se que, somente devido à ação de fungos, 10% da produção anual de pães é desperdiçada (FREIRE, 2011), resultando em perdas expressivas ao setor.

Atualmente, o campo da alimentação é regulado por consumidores que anseiam por produtos que contribuam para o equilíbrio da saúde e valorização do meio ambiente (PORTILHO; CASTAÑEDA; CASTRO, 2011). Nesse contexto, a indústria alimentícia investiga a utilização de produtos naturais que conciliem as tendências mercadológicas com a redução de desperdícios, sem se abnegar dos lucros.

O potencial antimicrobiano de óleos essenciais é amplamente conhecido na literatura (CARDOSO et al., 2019), se tornando uma boa opção para a substituição de aditivos químicos em alimentos em prol da saudabilidade, visando englobar as tendências desejadas pelo consumidor para garantir um alimento seguro.

Dada a facilidade de degradação e volatilidade dos compostos presentes em óleos essenciais (CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993), o microencapsulamento prévio constitui uma alternativa interessante de proteção desses compostos durante o processamento de produtos alimentícios, podendo conferir a liberação gradual dos componentes que possuem efeito antimicrobiano (ALMEIDA et al., 2017), sendo o encapsulamento utilizando atomizador (spray dryer) uma técnica relativamente barata e a mais comumente utilizada para encapsulação de ingredientes alimentícios (ZARDO, 2014).

Em vista dos argumentos apresentados, o presente trabalho se propõe a analisar o potencial antifúngico do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) encapsulado em pães de forma visando compreender a viabilidade em termos tecnológicos e sensoriais,

assim como as limitações dessa operação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a substituição do conservante artificial propionato de cálcio por microcápsulas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de orégano em pães de forma, como agente de ação antifúngica.

2.2 Objetivos Específicos

- Microencapsular óleo essencial de orégano, por Spray Dryer, utilizando maltodextrina e goma arábica como materiais de parede;
- Analisar as microcápsulas geradas quanto à eficiência de encapsulamento e propriedades térmicas;
- Elaborar pães de forma com 0,1%, 0,2% e 0,5% de microcápsula contendo óleo essencial de orégano em substituição à formulações contendo 0,1% e 0,2% de propionato de cálcio;
- Realizar análise sensorial do produto para verificar a aceitação por parte do consumidor;
- Acompanhar visualmente o aparecimento de fungos filamentosos nos pães embalados com diferentes agentes antimicrobianos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Panificação

Pão é um importante constituinte da dieta em muitos países e é consumido diariamente na maior parte do mundo, especialmente pela população ocidental, a exemplo do Brasil, que apresentou faturamento no setor de 90,1 bilhões no ano de 2017 (ABIP, 2018). Por apresentar alta atividade de água e, associado a isto, condições ideais de pH, temperatura, umidade elevada no armazenamento e, por muitas vezes, inadequadas condições de higiene durante a fabricação, o pão é considerado uma mercadoria perecível, sendo melhor o seu consumo fresco (BELLO et al., 2007) pela retenção de todos os atributos que tinha quando saído do forno.

Produtos de panificação servem como uma importante fonte de nutrientes, proporcionando grande parte da ingestão calórica necessária, se tornando um item essencial na alimentação de muitas pessoas (RAVIMANNAN; SEVVEL; SAARUTHARSHAN, 2016). Pelo fato de possuir grande perecibilidade torna-se providencial a utilização de métodos que visam prolongar a vida de prateleira deste produto. A vida útil de produtos de padaria isentos de conservantes e armazenados em condições ambiente é de 3 a 4 dias (LEGAN, 1993) e a deterioração é iniciada, geralmente, pós-processamento. O pão recém saído do forno é isento de mofo ou esporos que possam contaminar a massa devido à inativação térmica resultante do forneamento (SANTOS et al., 2015). Após, o pão torna-se passível de contaminação devido, principalmente, aos esporos de fungos presentes no ambiente pós-cozimento, durante as operações de resfriamento, corte, embalagem ou durante o armazenamento. Estima-se que 1g de farinha contenha em torno de 8000 esporos de mofo e o nível de esporos de fungos no ar nas indústrias de panificação possa variar entre 100 e 2500 esporos/m³ (SANTOS et al., 2015).

Apesar de essencialmente presente na mesa dos brasileiros, o pão é um produto altamente perecível, facilmente contaminado por microrganismos deteriorantes e produtores de toxinas prejudiciais à saúde (FREIRE, 2011) e de compostos potencialmente alergênicos (GUTIERREZ et al., 2009). O crescimento fúngico repele a intenção de compra pelo produto, caracterizando-se assim em um problema econômico para a indústria.

Em função do crescente interesse por produtos que retardem o envelhecimento e a contaminação de pães, novas tecnologias têm sido desenvolvidas e pesquisadas visando à redução de efeitos indesejáveis do processo de panificação e de prejuízos à saúde do

consumidor, resultando em melhorias na qualidade do produto final e na diminuição do desperdício de alimentos.

3.2 Antimicrobianos Usados em Panificação

O pão é composto basicamente de farinha de trigo, água, fermento biológico e sal (GANDRA et al., 2008). Porém, geralmente, estes não são os únicos ingredientes que um pão apresenta, e com o avanço da tecnologia a gama de produtos que podem ser adicionados para melhorar as características da massa durante o processamento é bastante ampla, traduzindo em melhorias de coloração, textura, aroma e vida útil dos produtos.

A legislação brasileira estabelece a função dos conservantes em alimentos como substâncias que impedem ou retardam a alteração provocada por microrganismos ou enzimas (ANVISA, 1997). A escolha do agente conservante deve ser baseada no seu espectro antimicrobiano, condições de manuseio, processo, estocagem e propriedades químicas e físicas dos produtos, tendo em vista que não se pode empregar conservantes almejando corrigir falhas ou problemas sanitários do processo (BRITO, 2011).

No segmento de aditivos com objetivo conservante em panificação, ácidos orgânicos fracos, como ácido propiônico e sórbico, são comumente adicionados como conservantes químicos para suprimir o crescimento de microrganismos indesejados e para prolongar a vida útil dos produtos de panificação (AXEL, 2015). Os sais de potássio, sódio ou cálcio são preferencialmente utilizados devido à sua maior solubilidade em água e pela sua ação efetiva no controle de bolores (SEBRAE, 2019). De acordo com a resolução 04 de 24 de novembro de 1988, o limite máximo de utilização de propionato de cálcio em produtos de panificação é 0,2% sobre o peso da farinha de trigo utilizada na formulação do produto (ANVISA, 1998).

Reduzir a deterioração em pães é uma questão desafiadora em padarias, e mesmo que várias soluções estejam disponíveis, a deterioração microbiológica do pão ainda causa uma perda de até 20% da produção ao ano (RYAN; BELLO; ARENDT, 2008). Por isso, atualmente, conservantes sintéticos são amplamente utilizados nos mais variados produtos de panificação. No geral, a indústria utiliza a concentração máxima (0,2%) permitida pela legislação de sorbato ou propionato para inibir a atividade fúngica, mas isso também pode alterar as propriedades sensoriais do produto (AXEL, 2015) e, além disso, gerar efeitos colaterais eventualmente tóxicos (PEREIRA et al., 2002). O estudo realizado por Türkoğlu (2008) em células de cebola (*Allium cepa*) revelou que o propionato de

cálcio, propionato de sódio e o propionato de potássio possuem efeitos cromotóxicos, pois inibiram a síntese de DNA devido à redução da atividade mitótica, impossibilitando que a célula entre em mitose, resultando em anormalidades nas raízes de *A. cepa*, como por exemplo, o aparecimento de micronúcleos e células binucleadas, o que significa que estes propionatos induzem quebras cromossômicas.

Sais de propionato, que são usados comumente na indústria alimentar, comprovadamente causam irritabilidade, inquietação, desatenção e distúrbios do sono em crianças (DENGATE; RUBEN, 2002). Outro problema é a utilização prolongada de um mesmo conservante, pois pode acarretar o desenvolvimento de resistência a esses produtos químicos (LEVINSKAITE, 2012). Tendo em vista isso, minimizar as concentrações desses aditivos adicionados aos alimentos processados reduziria as reações adversas (DENGATE; RUBEN, 2002).

Devido as desvantagens apresentadas referentes ao uso de conservantes químicos, evidencia-se uma lacuna a ser explorada por pesquisadores, visando encontrar alternativas de agentes seguros com o intuito de controlar os microrganismos deteriorantes em pães, garantindo a saúde do consumidor. O uso de conservantes naturais é uma prática que visa reduzir o teor ou substituir o uso desses aditivos sintéticos e cria alternativas complementares aos métodos tradicionais de conservação de panificados. As tendências na indústria de panificação incluíram o desejo de alimentos de alta qualidade, que são minimamente processados e não contenham conservantes químicos, aumentando assim o interesse pelo uso de conservantes naturais (RYAN; BELLO; ARENDT, 2008).

3.3 Antimicrobianos Naturais Usados em Panificação

Segundo o estudo Brasil Foods Trends 2020 (FIESP, 2010), com base em fatores de demanda, considerando mudanças no cenário nacional e mundial e comportamento de consumidores, as tendências em consumo de alimentos são: sensorialidade e prazer, saudabilidade e bem-estar, conveniência e praticidade, confiabilidade, sustentabilidade e ética. A busca por este novo estilo de vida passa primordialmente pela alimentação baseada em produtos saudáveis, que tragam benefícios para a saúde. Com isso, uma grande tendência é a preferência por alimentos, ingredientes e aditivos naturais (MELO et al., 2004).

Com o aumento do número de pessoas que rejeitam o uso de aditivos sintéticos, incluindo antioxidantes (DAVIDOVIĆ et al., 2010), somado a crescente demanda por

alimentos naturais, as indústrias estão pesquisando novos métodos para a obtenção de melhoria das características como maciez, textura e maior vida de prateleira dos pães (GANDRA et al., 2008), geralmente obtidas com a utilização de aditivos químicos. Nesse contexto, visando unir saudabilidade e o uso de coadjuvantes tecnológicos naturais, indústrias do ramo de alimentos buscam desenvolver produtos com alta qualidade sensorial agregando algum diferencial em relação a produtos convencionais, como o uso de alternativas naturais aos aditivos alimentares na prevenção ao crescimento de bactérias e fungos (BELLETTI et al., 2004).

As propriedades conservativas das plantas é percebida há séculos, pois uma grande variedade de ervas e especiarias são utilizadas para prolongar a vida útil dos alimentos (DEANS; RITCHIE, 1987). Como alternativa natural pode-se citar os óleos essenciais e compostos aromáticos naturais, visto que são capazes de reduzir ou controlar a proliferação de microrganismos e melhorar a vida útil de alimentos (LANCIOTTI et al., 2004). Além disso, muitos compostos naturais trazem efeitos benéficos para a saúde do consumidor ou possuem valor nutricional importante.

Deans e Ritchie (1987) ao avaliarem a propriedade antibacteriana de cinquenta óleos vegetais contra vinte e cinco gêneros de bactérias concluíram que a substituição de aditivos sintéticos por naturais dependerá fundamentalmente da determinação de uma concentração ideal. E, segundo Shelef (1984), concentrações entre 0,5% a 1% de especiarias são normalmente empregadas para realçar o aroma e sabor em produtos alimentícios.

Debonne et al. (2018) avaliaram a influência da adição de óleos naturais de cassis, cominho preto, tomilho e gérmen de trigo em pães. A influência dos óleos foi testada nas propriedades de absorção de água e amassamento da massa, elasticidade, gelatinização do amido e atividade fúngica e foram comparados com uma formulação controle sem óleo. Foi observado um aumento da vida útil de até 3 dias para o produto elaborado com óleo natural de gérmen de trigo e 20 dias para o elaborado com óleo natural de tomilho. Entretanto, este último apresentou diminuição na consistência da massa. Rizzello et al. (2015) quando avaliaram pães com substituição de farinha de trigo por farinha de ervilha observaram semelhante propriedade antifúngica entre as formulações contendo farinha de ervilha e a formulação contendo propionato de cálcio, devido à ação antifúngica proveniente das proteínas da ervilha.

Suhr e Nielsen (2003) avaliaram a atividade antifúngica de óleos essenciais extraídos da laranja, sálvia, louro, canela, cravo, erva-cidreira, mostarda, tomilho e alecrim. Para isso utilizaram duas metodologias: uma produzindo um meio de cultura ágar a base

de pão de centeio que foi suplementado com 100 e 250 μ L de óleo essencial e fungos de deterioração do pão de centeio inoculados, e outra metodologia na qual o pão de centeio foi exposto à um ambiente fechado contendo 136 e 272 μ L⁻¹ de óleo essencial volátil no ar, sem contato direto com o pão. O primeiro método demonstrou que o óleo essencial de tomilho é o melhor inibidor de crescimento geral, seguido de cravo e canela, enquanto que pelo método volátil a mostarda e a erva-cidreira foram os óleos mais eficazes, concluindo que os efeitos antifúngicos dos óleos essenciais dependem do método de aplicação.

ANGELICO et al. (2015) avaliaram, *in vitro*, a atividade fungitóxica dos extratos de alho, gengibre, orégano, cravo, canela e tomilho sobre o crescimento micelial e esporulação de colônias jovens (7 a 10 dias) dos fungos *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus stolonifer*, característicos de pães artesanais e como resultados obtiveram evidências no controle do crescimento micelial e esporulação dos fungos estudados, sendo o extrato de orégano mais eficiente na inibição do *A. ochraceus* e do *P. roqueforti*, pois apresentou baixa contagem de esporos para esses microrganismos.

Kringel (2019) encapsulou óleo essencial de laranja com ciclodextrinas e avaliou a atividade antifúngica *in vitro* contra seis isolados de *Aspergillus spp.*, bem como a atividade antifúngica *in situ* do óleo, na forma livre e encapsulada, em bolos. Como resultados obteve que o óleo essencial de laranja aumentou a estabilidade microbiológica de bolos, inibindo em 100% o crescimento dos isolados de *Aspergillus*, atrasando a contaminação fúngica de 30 para 150 dias em bolos industrializados.

Nesse contexto, pesquisadores ao longo dos anos têm estudado a adição de compostos extraídos de óleos essenciais de diferentes plantas em alimentos, objetivando a utilização destes como antimicrobianos (CLEMENTE; AZNAR; NERÍN, 2019). A literatura científica na área da ciência e tecnologia de alimentos tem mostrado um enfoque no estudo do potencial antimicrobiano de óleos essenciais, sendo considerado como um procedimento natural capaz de prover a extensão da vida útil e satisfatória segurança microbiológica de alimentos (TRAJANO et al., 2009). Ou seja, o universo de produtos naturais é bastante diversificado e está em plena expansão ou permitindo o estudo de compostos que possam ser adicionados durante processamento como uma tecnologia de barreira, ou possibilitando substituir produtos artificiais, que possuem limites de utilização restringidos devido ao seu caráter reconhecidamente prejudiciais à saúde (MORRIS, 2019).

Problemas crescentes com resistência microbiana e um aumento na produção de alimentos minimamente processados, associados às políticas de imagem verde das indús-

trias de alimentos estimulam as preocupações em oferecer um alimento seguro através da utilização de conservantes naturais (SUHR; NIELSEN, 2003). É importante ressaltar que a resolução número 382 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 5 de agosto de 1999, que regulamenta o uso de aditivos alimentares, suas funções e limites máximos não restringe o uso de condimentos vegetais e especiarias (ANVISA, 1999).

3.3.1 Óleo Essencial de Orégano (OEO)

Óleos essenciais são compostos voláteis aromáticos produzidos por diversas plantas e podem ser encontrados em diferentes partes, incluindo raízes, troncos, cascas, caules, folhas, flores e frutas (CUI et al., 2019). São compostos secundários produzidos pelas plantas em resposta a fatores estressantes, ou seja, desempenham papel de defesa e, portanto, as condições de crescimento da planta podem afetar o rendimento e o conteúdo de óleo essencial (CALO et al., 2015).

O orégano (*Origanum vulgare*) pertence à família *Lamiaceae*, possui mais de 900 espécies ao redor do mundo (KORDALI et al., 2008), é uma erva perene, nativa do mediterrâneo, que possui grande importância na culinária, utilizada como agente flavorizante, sendo o óleo essencial de orégano (OEO) reconhecido como seguro pela FDA (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012). Possui diversas propriedades, tais como, antimicrobiana (ARAUJO; LONGO, 2016), anti-inflamatória, antifúngica (ZANANDREA et al., 2004), antioxidante, herbicida e inseticida (KORDALI et al., 2008).

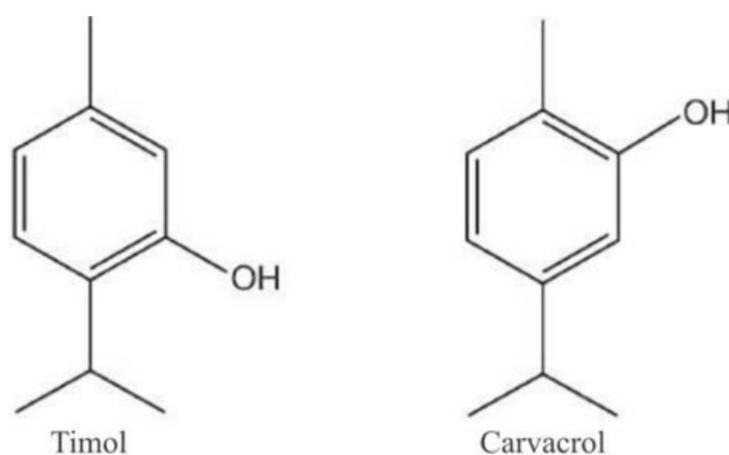
Dentre os mais de 200 componentes presentes no óleo essencial de orégano (CAETANO, 2016), destacam-se os constituintes majoritários timol e carvacrol (FIGUÉRÉDO; CHALCHAT; PASQUIER, 2006) (Figura 3.1), dois monoterpenos fenólicos aromáticos grandes responsáveis pelas propriedades antimicrobianas apresentadas pelo OEO (CUI et al., 2019).

Passarinho et al. (2014) desenvolveram sachês contendo óleo essencial de orégano, aplicaram em embalagens contendo pães e avaliaram o crescimento fúngico *in vitro* e *in situ* ao longo de quinze dias de análise. Como resultados, atestaram o efeito antifúngico, além de observarem redução nas taxas de crescimento de leveduras e bolores no pão fatiado, indicando a aplicação potencial de sachês produzidos com óleo essencial de orégano como um sistema de embalagem antimicrobiana para a preservação de fatias de pão.

Embora tenha a ação antimicrobiana comprovada, geralmente são necessárias concentrações muito maiores dos óleos essenciais, comparativamente a antimicrobianos arti-

ficiais, para que se atinja a mesma eficiência quando aplicado em alimentos. Aproximadamente cem variedades de óleos essenciais são utilizados como substâncias aromatizantes e flavorizantes em alimentos (SMITH et al., 2005) e, de acordo com Shelef (1984), a concentração utilizada para a manifestação dos efeitos antimicrobianos dos óleos essenciais é, geralmente, maior do que a concentração utilizada para conferir realce em sabor e aroma em alimentos. Tendo em vista isso, a técnica de microencapsulamento pode ser ideal para mascarar o excessivo acréscimo indesejável em características organolépticas.

Figura 3.1: Estrutura do timol e carvacrol, principais constituintes do OEO.



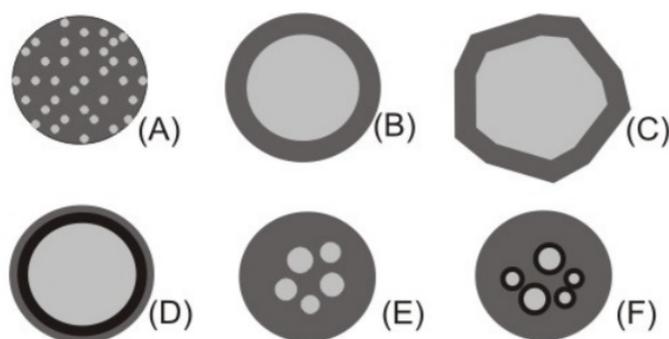
Fonte: (BOTREL et al., 2015)

3.4 Microencapsulamento

Microencapsulamento é definido como uma tecnologia de empacotamento de substâncias (ALMEIDA et al., 2017), tais como ingredientes alimentícios, enzimas, células, compostos bioativos, produtos farmacêuticos, entre outros (DESAI; PARK, 2005). As substâncias de interesse são revestidas por uma camada polimérica com função protetora, que isolam a substância ativa do meio externo e evitam os efeitos indesejados da sua exposição ao ambiente (ZARDO, 2014). Na indústria de alimentos, a microcápsula, em sua forma mais simples, consiste em uma pequena esfera do ingrediente, aditivo ou substância ativa de interesse, compondo o núcleo interno, que pode apresentar-se nos estados sólido, líquido ou gasoso (VENKATESAN et al., 2009) envolta por material encapsulante comestível (AZEREDO, 2008), de modo que se forme um sistema semelhante ao modelo celular, no qual o citoplasma é envolto e protegido por uma membrana que controla a entrada e saída de material na célula (ZARDO, 2014).

Segundo Silva et al. (2014), as cápsulas são classificadas por tamanho em três categorias: macro ($> 5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2 - 5000 \mu\text{m}$) e nano ($< 0,2 \mu\text{m}$), podendo ser separadas em dois grupos: microcápsulas e microsferas. Ou seja, o empacotamento de moléculas dentro de um núcleo ou a dispersão do material incorporado ao encapsulante, respectivamente. A figura 3.2 representa alguns dos principais modelos de microcápsulas.

Figura 3.2: Alguns modelos de microcápsulas. (A): matriz; (B): microcápsula simples; (C): irregular; (D): duas paredes; (E): vários núcleos; (F): agrupamento de microcápsulas



Fonte: (AZEREDO, 2008)

Relativo aos benefícios de utilizar a técnica de encapsulamento de compostos, pode-se citar: i) proteção do produto encapsulado aos fatores ambientais (umidade, temperatura, radiação e interações químicas com outros compostos); ii) diminuição da taxa de evaporação do componente encapsulado, reduzindo a perda do composto para o ambiente em que está inserido; iii) melhora da solubilidade; iv) liberação gradativa do material do núcleo, sob condições específicas, evitando a perda de compostos durante o processamento; v) mascaramento das características organolépticas indesejáveis (AZEREDO, 2008).

Dentre os diversos métodos de microencapsulação (Tabela 3.1), deve-se escolher o que for reprodutível em escala industrial, e, sobretudo, minimizar a redução da atividade do composto encapsulado (SILVA et al., 2003). Nesse contexto destaca-se o uso do spray dryer, tecnologia líder em indústrias de alimentos devido ao baixo custo e disponibilidade de equipamentos comparado com outros métodos (ALMEIDA et al., 2017).

Tabela 3.1: Principais métodos de produção de microcápsulas

Métodos Físicos	Métodos Químicos	Métodos Físico-Químicos
Spray drying	Inclusão	Coacervação
Spray chilling	Polimerização	Envolvimento por lipossomas
Cobertura por spray em leite fluidizado		Separação em fase orgânica
Extrusão		
Extrusão centrífuga em múltiplos orifícios		
Liofilização		

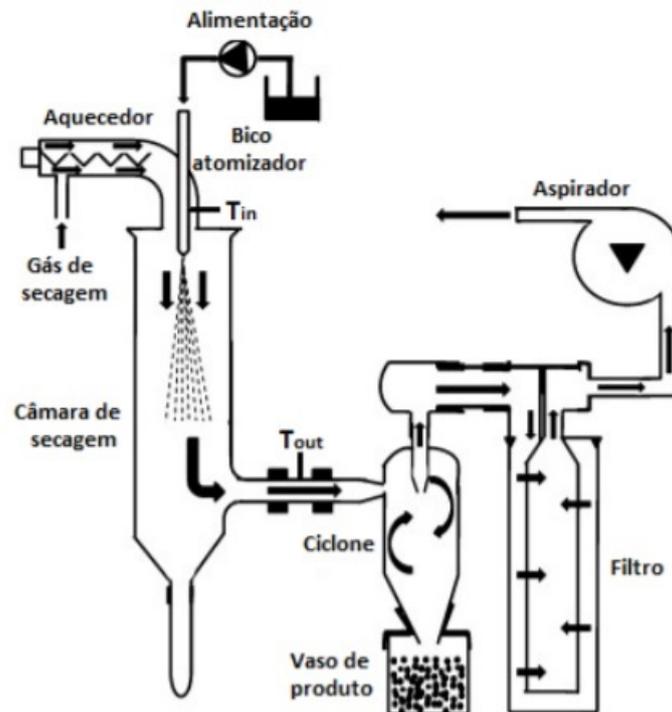
Fonte: (ZUANON, 2012)

A secagem por spray drying (Figura 3.3), também conhecida como atomização, consiste na transformação de um material fluido em partículas secas (pó), devido a rápida perda de umidade da gotícula de fluido aspergida por meio de bicos atomizadores, através da passagem por um meio de secagem aquecido, resultando em partículas secas que são recolhidas no ciclone (ZUANON, 2012). Dentre as variáveis do processo, pode-se citar as temperaturas de entrada e saída do secador, o tempo de residência e a temperatura de alimentação, resultando na obtenção de diferentes formas de material seco que podem ser obtidas através da secagem (ZARDO, 2014). Spray drying também é utilizado na indústria alimentar de forma a assegurar a estabilidade microbiológica dos produtos, devido a redução da atividade de água do produto (CARVALHO, 2009), além de facilitar o manuseio, transporte e armazenamento (BÖGER; GEORGETTI; KUROZAWA, 2018).

A tecnologia de microencapsulação é bem desenvolvida e aceita nas indústrias farmacêutica, química e cosmética (SILVA et al., 2014). As indústrias de alimentos e ingredientes foram recentemente reconhecidas como áreas de crescimento potencialmente significativas para a tecnologia (PEREIRA et al., 2018). A microencapsulação tem o potencial de oferecer novas soluções para entrega e proteção aprimoradas de ingredientes nos alimentos. Há um número crescente de oportunidades na indústria de alimentos, em que maiores demandas estão sendo feitas sobre a integridade das cápsulas para fornecer entrega controlada do material do núcleo no momento e no local mais dispersos (AUGUSTIN; SANGUANSRI, 2008).

Referente à composição do material que compõe a estrutura de parede da microcápsula, existe uma ampla variedade de opções comestíveis (Tabela 3.2) que podem ser utilizadas sozinhas ou combinadas, dependendo da técnica de microencapsulação uti-

Figura 3.3: Representação do processo de encapsulação por spray dryer.



Fonte: (ZARDO, 2014)

lizada (FERNANDES; CANDIDO; OLIVEIRA, 2012). A goma arábica é um agente encapsulante notavelmente eficaz por causa de sua propriedade coloidal estabilizadora, produzindo emulsões estáveis com a maioria dos óleos em uma ampla faixa de pH e compatível com a maioria dos demais materiais encapsulantes (YANG; XIAO; DING, 2009). A maioria destes encapsulantes por si só não possuem propriedades interfaciais necessárias para boa eficiência de microencapsulação e, portanto, são frequentemente associados a outros materiais de encapsulamento, como gomas, proteínas e carboidratos (YOSHII et al., 2001). Dentre os carboidratos pode-se citar a maltodextrina, que é de grande utilização no processo de secagem por atomização devido a suas características físicas, como alta solubilidade e baixa viscosidade em altas concentrações de sólidos (GOUBET; QUERE; VOILLEY, 1998). Destaca-se também a utilização de uma combinação de materiais, a fim de se obter melhores resultados de eficiência e rendimento na microencapsulação (PEREIRA et al., 2018), minimizando a perda de óleos essenciais voláteis. Por exemplo, Costa et al. (2013) demonstraram ao analisar três componentes encapsulantes (maltodextrina, goma arábica e amido modificado), em dez combinações com proporções diferentes de cada uma, objetivando analisar com qual combinação se obtém maior quantidade do componente de interesse encapsulado, o carvacrol. Como resultado, a máxima concentração de carvacrol foi detectada sem a presença do amido modificado, apenas com 62,5%

de goma arábica e 37,5% de maltodextrina como agentes encapsulantes.

Tabela 3.2: Principais agentes encapsulantes utilizados na indústria de alimentos.

Carboidratos	Celuloses	Gomas	Lipídeos	Proteínas
Maltodextrinas	Carboxi metilcelulose	Goma arábica	Ceras	Glúten
Amido	Metilcelulose	Ágar	Parafina	Caseína
Xarope de milho	Etilcelulose	Alginato de sódio	Triestearina	Gelatina
Dextrana	Nitrocelulose	Carragena	Ácido esteárico	Albumina
Sacarose	Acetilcelulose		Diglicerídeos	Hemoglobina
Ciclodextrinas			Monoglicerídeos	Peptídeos
			Óleos	
			Gordura	

Fonte: (SOUSA et al., 2015)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção das Microcápsulas

Óleo essencial de orégano (marca Quinarí, Ponta Grossa) foi adquirido em loja especializada. Para compor o material de parede se utilizou goma arábica e maltodextrina nas concentrações de 62,5% e 37,5%, respectivamente, por representarem as concentrações que Costa et al. (2013) indicaram apresentar a maior retenção do componente carvacrol encapsulado. As condições do processo foram baseadas em testes preliminares conforme Böger, Georgetti e Kurozawa (2018). Para tanto, o material de parede foi dissolvido em 500 mL de água destilada e acrescentado o óleo essencial de orégano à solução que, posteriormente, foi homogeneizada em Ultra-Turrax (IKA Ultra Turrax® digital, modelo T25, Staufen, Alemanha) a 18000 rpm por 5 minutos. A emulsão óleo-em-água resultante foi alimentada na câmara de secagem usando uma bomba peristáltica e bombeada através de um atomizador em escala de laboratório do tipo Mini-Spray-Dryer (LM MSDi 1.0, LABMAQ, Brasil), com um bico de pulverização com orifício de 0,7 mm de diâmetro. As temperaturas do ar de entrada e saída do processo foram de 180°C e 105°C, respectivamente, e o fluxo de alimentação mantido em 350 mL/h. Também foram produzidas microcápsulas vazias, sem a adição do OEO, como controle.

4.2 Caracterização das Micropartículas

4.2.1 Eficiência de Encapsulação

A eficiência de encapsulação do óleo essencial de orégano foi avaliada através da determinação do óleo encapsulado e óleo livre das micropartículas. Para isso, foi realizada a derivatização do óleo em ésteres metílicos, para torná-lo volátil e aumentar sua estabilidade, permitindo sua identificação utilizando cromatógrafo gasoso (CG-FID, SHIMADZU, modelo GC-2010 Plus, Quioto, Japão) com detector de ionização de chama acoplado.

O teor total e livre de óleo essencial de orégano foi determinado através da extração do óleo reproduzindo metodologia utilizada por (CAMPO, 2018). Para romper o material de parede das micropartículas, 40 mL de ácido clorídrico 4 N foram adicionados em 0,5g de micropartículas e agitados em vortex (IKA®) vortex, modelo VG 3S32,

Carolina do Norte, EUA) durante 1 minuto. Visando a retenção do óleo liberado, 20 mL de hexano foram adicionados e a solução foi agitada em vortex por mais 1 minuto. A solução resultante foi transferida para erlenmeyers e deixadas sob agitação em shaker (CERTOMAT® shaker, modelo MO II, Alemanha) durante 4 horas para que houvesse a migração do óleo da amostra para o hexano. Foi realizada a separação do óleo em funil de separação e as amostras foram transferidas para um tubo de ensaio, secas em corrente de nitrogênio e congeladas a -18°C até o uso.

Para determinação do óleo livre (não encapsulado), 20 mL de hexano foram adicionados às micropartículas e agitados em vortex por 1 minuto para o óleo livre migrar para o solvente. Posteriormente, o solvente contendo o óleo livre foi separado dos demais constituintes em um funil de separação, onde foram feitas lavagens com solução saturada de NaCl até o hexano ficar com aparência límpida. Após, a amostra foi transferida para um tubo e seca em corrente de nitrogênio.

A micropartícula contendo o óleo essencial de orégano foi saponificada utilizando uma solução metanólica de NaOH 0,5 N. O teor de ésteres metílicos foi identificado através de comparação do tempo de retenção com o padrão FAME (FAME MIX Supelco® 37, Sigma- Aldrich, St. Louis, EUA), que foi utilizado como padrão externo. Como padrão interno, utilizou-se 2,6-dit-butil-p-hidroxitolueno (BHT) a uma concentração de 0,5mg/mL. Os ésteres metílicos foram quantificados através de normalização de área. As injeções foram realizadas em triplicata e o processamento e aquisição dos resultados foram realizados pelo software GC solution.

Foi realizada a comparação do tempo de retenção dos compostos com o FAME MIX e a eficiência de encapsulação foi determinada segundo a equação:

$$EE(\%) = \frac{Tf - Tfaq}{Tf} \times 100 \quad (4.1)$$

Onde: Tf (mg/g) é o conteúdo de óleo total extraído da micropartícula e Tfaq (mg/g) é o conteúdo de óleo livre não encapsulado.

4.2.2 Propriedades Térmicas

Foram avaliadas as propriedades térmicas das micropartículas de OEO, das microcápsulas vazias e do OEO puro com analisador termogravimétrico (Perkin Elmer, modelo

Pyris 1, Waltham, EUA) (Figura 4.1) sob uma atmosfera de nitrogênio. Em torno de 10-15 mg de amostra foram submetidas a aquecimento de 25°C a 600°C a uma taxa de 20°C/min, e a perda de massa (%) foi avaliada em função da temperatura.

Figura 4.1: Analisador termogravimétrico.



Fonte: O Autor

4.3 Produção do Pão

Os pães foram produzidos no Laboratório de Panificação cereais do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos ICTA - UFRGS (Porto Alegre, Brasil), de acordo com o trabalho de Pinilla, Thys e Brandelli (2019). Foram produzidas cinco formulações de pão, duas contendo o antifúngico comercial propionato de cálcio, nas concentrações de 0,1 e 0,2%, isentos de antifúngicos naturais, enquanto as outras três formulações produzidas continham somente o óleo essencial de orégano microencapsulado como componente antifúngico da massa, nas concentrações de 0,1, 0,2 e 0,5%.

Cada formulação continha 500g farinha de trigo (Roseflor alimentos, Caxias do Sul, Brasil), 15g óleo vegetal (Klemm Cia, Santa Cruz do Sul, Brasil), 10g fermento biológico (Fleischmann, Petrópolis, Brasil), 10g sal, 25g açúcar e 0,045g ácido ascórbico (Granolab, Araucaria, Brasil). Os ingredientes foram misturados por 15 minutos em masseira (Britânia, Curitiba), cortados em pedaços de 180g, boleados, extrusados (G. Paniz,

modelo 90334, Brasil) e modelados manualmente. As massas foram dispostas em fôrmas padrão e colocadas em fermentadora a 30°C, 85% U.R, durante 1 hora. O forneamento foi realizado em forno (Tedesco ITT150E) a 220°C durante 9 minutos, em seguida os pães foram retirados do forno e deixados por 1 hora em racks de resfriamento para serem embalados.

4.3.1 Análise de Crescimento Fúngico

A presença de bolores visíveis na superfície do pão é considerado o ponto crítico de avaliação de deterioração para os consumidores (PINILLA; THYS; BRANDELLI, 2019). Sendo assim, as amostras de pão contendo propionato de cálcio (0,1% e 0,2%) e óleo essencial de orégano (0,1%, 0,2% e 0,5%) foram monitoradas conforme o método de desafio ambiente, descrito por Axel et al. (2015), baseado na análise de crescimento fúngico como porcentagem da área total de cada fatia de pão, ao longo de 15 dias de armazenamento.

4.3.2 Textura

Para avaliação das propriedades de textura do miolo, foram analisadas a coesividade, elasticidade (mm), firmeza (g), resiliência, gomosidade (g) e mastigabilidade ($\text{gf}\cdot\text{mm}^{-1}$) dos pães, utilizando-se texturômetro (Stable Micro Systems, modelo TA.XT2i, Godalming, Reino Unido) (Figura 4.2), de acordo com (AACC, 2000). Para análise dos resultados foi utilizado o programa Exponent Lite.

Figura 4.2: Texturômetro.



Fonte: O Autor

4.3.3 Volume Específico

O volume dos pães foi determinada em triplicata, pelo método de deslocamento de sementes de painço, conforme (ALMEIDA, 2006) e a massa, utilizando-se balança semi-analítica. O volume específico foi determinado pela relação volume/massa e foi expresso em cm^3/g . A determinação do volume específico dos pães foi realizada em triplicata, 1 hora após a saída do forno.

$$ve = \frac{v}{m} \quad (4.2)$$

Onde: ve (cm^3/m) é o volume específico, v (cm^3) é o volume e m (g) é a massa do pão.

4.3.4 Análise Sensorial

O teste aplicado para a análise sensorial foi o de aceitação de atributos por escala hedônica, sendo conduzido no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram avaliados

cinco formulações de pão, duas formulações contendo o conservante propionato de cálcio, em concentrações de 0,1 e 0,2% e, também foram testadas duas formulações substituindo o propionato de cálcio nas mesmas proporções para microcápsulas de óleo essencial de orégano (0,1 e 0,2%). Além disso, foi avaliada uma terceira formulação contendo maior concentração de microcápsula (0,5%), pois por ser um produto natural estimou-se que fosse necessária uma quantidade maior para apresentar um efeito semelhante ao produto sintético.

A avaliação sensorial foi realizada por 50 provadores não treinados, recrutados entre os alunos e servidores do Instituto de Ciência e Tecnologia da UFRGS, com faixa etária variando entre 19 e 40 anos, sendo 35 do sexo feminino e 15 do sexo masculino. Os testes foram conduzidos em cabines individuais onde os avaliadores receberam uma amostra de cada uma das cinco formulações do produto, cortadas utilizando gabarito, para obter fatias de igual tamanho, identificadas com um código de três números aleatórios, e uma ficha (Apêndice 1). Foram avaliados os seguintes atributos: aparência, cor, aroma, textura, sabor, sabor residual e aceitação global de acordo com a escala hedônica (de 1 - Desgostei muitíssimo a 9 - Gostei muitíssimo). Para análise estatística foi utilizada ANOVA fator duplo sem repetição e teste de Tukey para diferença das médias.

4.4 Análise Estatística

Os dados observados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de confiança de 95% ($p < 0.05$) e teste Tukey usando o software Statistica 13.0 (Statsoft, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das Micropartículas

5.1.1 Eficiência de Encapsulação

A obtenção de valores elevados de eficiência de encapsulação pode ser alcançada pela escolha correta do método de obtenção das microcápsulas (LOPES, 2018), sendo dependente das substâncias a serem encapsuladas, das características do material de parede, do componente do núcleo (AUGUSTIN; HEMAR, 2009) e das suas devidas concentrações utilizadas (UMBELINO; ROSSI; CARDELLO, 2009).

As microcápsulas elaboradas apresentaram alta eficiência de encapsulação (84,8%), resultado semelhante ao relatado por Rosa et al. (2019) que utilizaram nanocápsulas de zeína contendo óleo essencial de orégano. Para aplicação em pães como conservante, e observaram eficiência de encapsulação entre 80 e 90%. Os resultados aqui apresentados foram superiores ao encontrado por Costa et al. (2013) que, ao encapsular OEO com 74,5% de goma arábica, 12,7% de amido modificado e 12,7% de maltodextrina, relatou eficiência de encapsulação de 77,39%.

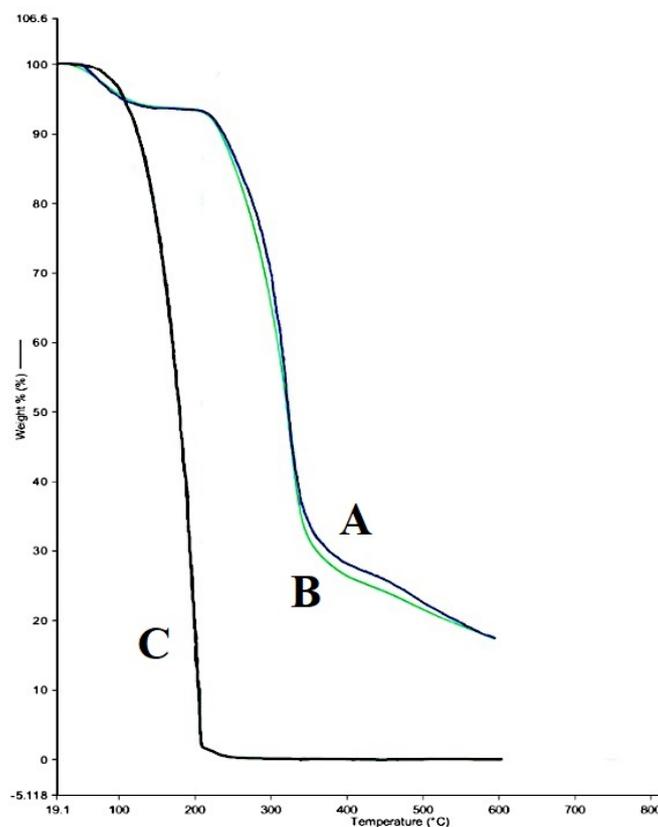
5.1.2 Propriedades Térmicas

Através dos resultados gerados pela análise termogravimétrica (Figura 5.1), observa-se uma boa estabilidade para o OEO até temperaturas próximas de 100°C e uma rápida decomposição até 200°C. Enquanto que, tanto a microcápsula contendo OEO, quanto a microcápsula vazia demonstraram boa estabilidade quando avaliadas sob temperaturas superiores a utilizada na produção dos pães (220°C). Sob temperaturas próximas a 240°C, em torno de 90% dos componentes das amostras encapsuladas se mantiveram preservados, fazendo essa técnica uma alternativa recomendada para manutenção dos compostos antifúngicos presentes no OEO. Laroque et al. (2018), ao desenvolverem filme antimicrobiano de acetato de celulose adicionado com carvacrol, constataram a diminuição da estabilidade térmica com o aumento da concentração, e relacionaram a degradação do carvacrol a temperaturas próximas de 200°C, indicando que o carvacrol possui a capacidade de interagir a nível molecular formando ligações de hidrogênio com o polímero da estrutura, ao se intercalar entre as cadeias de acetato de celulose e, conseqüentemente, reduzir

a interação polímero-polímero, diminuindo o ponto de ebulição desse componente, que, em condições normais, é igual a 238°C (ARFA et al., 2006).

Bolzan et al. (2015) também realizaram a análise termogravimétrica do OEO e obtiveram resultados que apontam que a primeira variação de massa ocorre em 75°C, aonde são liberados os compostos mais voláteis, representando 20% do peso total do óleo. A maior variação de massa ocorre a 100°C, e a queima total do óleo ocorreu a 177°C. Portanto, esses resultados comprovam a importância de encapsular o OEO quando exposto em condições tais como a temperatura de forneamento dos pães.

Figura 5.1: Análise térmica.(A): Microcápsula vazia ; (B): Microcápsula contendo OEO; (C): OEO



Fonte: O Autor

5.2 Caracterização do Pão

5.2.1 Análise de Crescimento Fúngico

O crescimento fúngico é dependente de diversas variáveis, entre elas as condições ambientais, como temperatura e umidade, além de condições inerentes ao processamento,

representada pelas boas práticas de fabricação. O método escolhido para a análise de crescimento fúngico torna possível a comparação visual entre as formulações produzidas sob mesmas condições ambientais e de processamento. Existem vários métodos descritos na literatura visando mensurar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, porém, a ausência de métodos padronizados dificulta a comparação entre os estudos e inviabiliza a sua reprodutibilidade (NASCIMENTO et al., 2007).

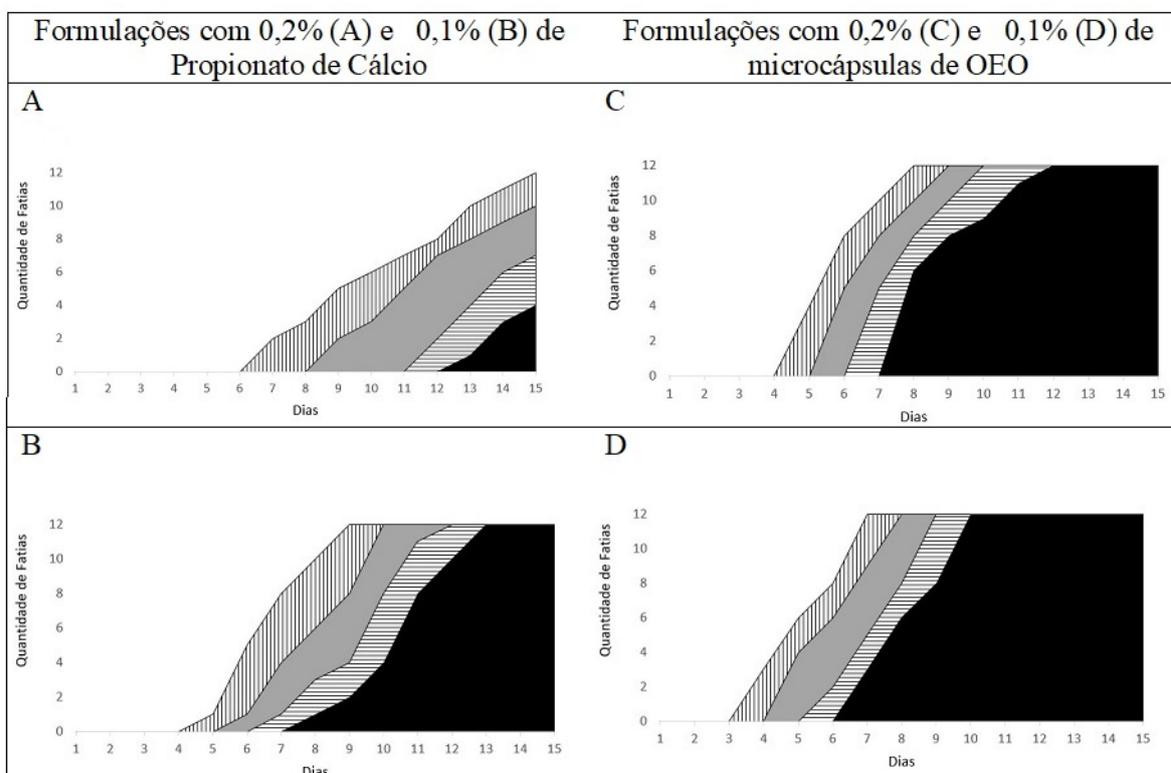
Ainda que o mecanismo de ação dos óleos essenciais não tenha sido completamente elucidado, acredita-se que devido a hidrofobicidade haja interação com a fração lipídica da membrana celular de microrganismos, tornando-as mais permeáveis, resultando em vazamento de íons e dificultando o transporte de substâncias importantes para as células, ocasionando a morte celular (BURT, 2004).

Tendo em vista isso, importa, portanto, observar graficamente que, com a utilização de 0,2% de propionato de cálcio (Figura 5.2-A) obteve-se os melhores resultados, pois as fatias de pães permaneceram isentas de crescimento fúngico (área branca do gráfico) até o sétimo dia de análise, onde 2 fatias apresentaram até 10% de crescimento fúngico (área com listras verticais do gráfico). Ao nono dia de análise 2 fatias apresentaram de 10 a 24% de bolores (área em cinza do gráfico) e somente no décimo terceiro dia surgiu uma fatia com mais de 50% de bolores (área em preto do gráfico). Após 15 dias de análise ainda haviam 2 fatias contendo quantidade inferior a 10% de crescimento fúngico, 3 fatias apresentavam de 10 a 24%, outras 3 fatias apresentavam de 24 a 50% (área com listras horizontais do gráfico) e 4 fatias apresentavam mais de 50% de crescimento fúngico.

Em relação à concentração reduzida (0,1%) de propionato de cálcio (Figura 5.2-B), observa-se o aparecimento de bolor na primeira fatia no quarto dia de análise e, no décimo terceiro dia, todas as fatias já apresentavam quantidade superior a 50% de bolores, sendo este resultado superior quando comparado à formulação contendo 0,1% de microcápsula de OEO (Figura 5.2-D) que no décimo dia de análise já possuía todas as fatias cobertas por bolores.

Quando comparamos 0,1% de microcápsula contendo OEO (Figura 5.2-D) com 0,2% de microcápsula contendo OEO (Figura 5.2-C), tem-se melhores resultados antifúngicos para a formulação com maior concentração de OEO, entretanto, ambas apresentaram eficiência menor quando comparadas à 0,1% de propionato de cálcio (Figura 5.2-B).

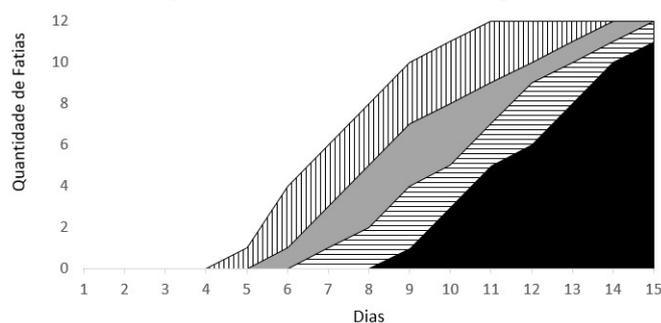
Figura 5.2: Gráficos gerados através do acompanhamento visual do aparecimento de bolores em 12 fatias de pão contendo propionato de cálcio ou OEO microencapsulado como agente de conservação.



Área branca: isento de bolores; Área hachurada vertical: < 10% de bolores; Área cinza sólida: entre 10 a 24% de bolores; Área hachurada horizontal: entre 25 a 49% de bolores; Área preta: > que 50% de bolores.

Referente à formulação de 0,5% de microcápsula contendo OEO (Figura 5.3), houve evidenciada atividade antifúngica, pois conseguiu alongar até o último dia de análise o aparecimento de menos de 50% de bolores em pelo menos uma fatia, resultado superior, portanto, quando comparado a menor concentração de aditivo sintético.

Figura 5.3: Formulação com 0,5% de microcápsula contendo OEO.



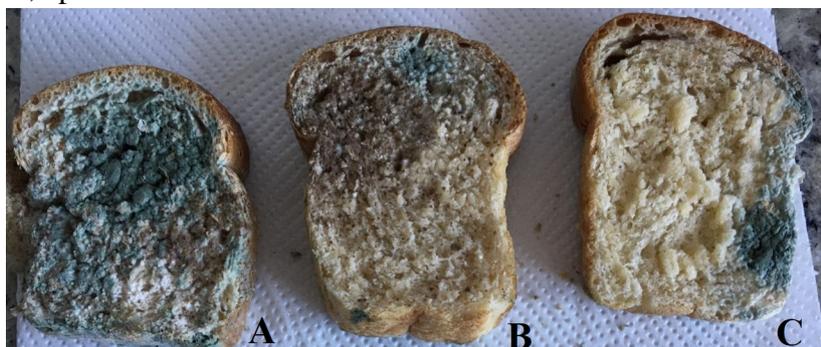
Área branca: isento de bolores; Área hachurada vertical: < 10% de bolores; Área cinza sólida: entre 10 a 24% de bolores; Área hachurada horizontal: entre 25 a 49% de bolores; Área preta: > que 50% de bolores.

Visando a validação do efeito antifúngico do óleo essencial de orégano, necessita-se deter o conhecimento que cinge as particularidades do óleo a ser testado. Fatores como clima, solo, adubação, uso de agrotóxicos, irrigação, técnica de extração e tratos culturais fornecem as características finais do óleo essencial, resultando em alterações na atividade antimicrobiana (NASCIMENTO et al., 2007). Como evidenciado por Silva et al. (2010), que analisaram 5 marcas comerciais de óleos essenciais de orégano provenientes de diferentes partes do mundo e observaram a atividade antimicrobiana potencializada em OEO provenientes da região do Mediterrâneo.

É necessário a padronização das condições de cultivo e extração do OEO, para elucidar a verdadeira atividade biológica, bem como fazer uma comparação direta entre os exemplares de OEO disponíveis comercialmente. Sabe-se que a eficácia da ação antimicrobiana de OEO varia conforme a concentração de timol e carvacrol, e estes são dependentes de fatores abióticos (NASCIMENTO et al., 2007). Ainda, Chorianopoulos et al. (2004) aduzem que presença de alguns componentes presentes no OEO, em concentrações menores, podem provocar reações antagônicas ou sinérgicas para o efeito antimicrobiano, por isso, torna-se fundamental conhecer o perfil do OEO utilizado para obter os resultados desejados frente à inibição microbiana.

A figura 5.4 traz uma comparação entre as fatias de pão contendo as três diferentes concentrações de microcápsulas de OEO, após 7 dias de análise, sendo possível notar que, com o aumento da concentração do antifúngico natural, houve resposta proporcional no crescimento de bolores, ou seja, foi atestada a inibição.

Figura 5.4: Fatias de pães elaborados com 0,1% (A), 0,2% (B) e 0,5% (C) de microcápsulas de OEO, após 7 dias.

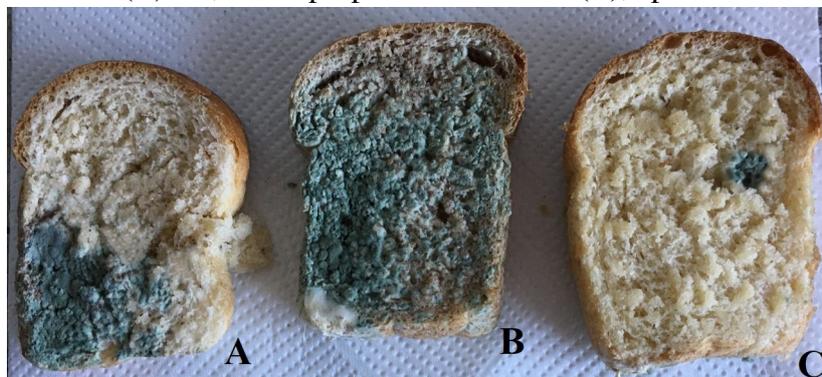


Fonte: O Autor

A figura 5.5 ilustra a comparação realizada entre fatias dos pães com diferentes concentrações de microcápsula de OEO e de propionato de cálcio. Pode-se perceber que, a figura elucidada o que foi observado na metodologia empregada, sendo a concentração de 0,5% de microcápsula de OEO um intermediário entre as duas formulações com aditivo

sintético.

Figura 5.5: Fatias de pães elaborados com 0,5% de microcápsulas de OEO (A), 0,1% de propionato de cálcio (B) e 0,2% de propionato de cálcio (C), após 7 dias.



Fonte: O Autor

Pereira et al. (2006) avaliaram os efeitos inibitórios de cinco óleos essenciais, dentre eles o OEO, nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 mg/mL sobre o desenvolvimento de alguns fungos comuns em produtos de panificação, tais como o *Fusarium sp.*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus ochraceus*. O meio contendo as diferentes concentrações dos óleos essenciais foi vertido em placas de Petri e o inóculo transferido para o centro das placas. A incubação ocorreu com temperatura de 25°C, e fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias. Após este período de desenvolvimento foram efetuadas medições ortogonais do diâmetro das colônias tendo como referência o desenvolvimento da placa controle contendo apenas os fungos desenvolvendo sob o meio de cultura sem adição dos óleos essenciais. Concluíram que o OEO inibiu o desenvolvimento dos fungos testados em todas as concentrações exceto o fungo *A. niger* que teve o seu desenvolvimento micelial inibido a partir da concentração de 1000 mg/mL.

5.2.2 Textura

O tamanho das microcápsulas afeta a textura. Sendo assim, a adição de partículas grandes ($> 50 \mu\text{m}$) é indesejável na maioria dos casos (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007). Homayouni et al. (2007), ao encapsularem probióticos com alginato de cálcio, constataram que o tamanho da esfera encapsulada em menos de $100 \mu\text{m}$ seria vantajoso para manutenção de textura e permitiria adição dessas microcápsulas em um grande número de alimentos. Determinar o perfil de textura é importante em avaliações de consistência e estabilidade, pois fornece informações sobre a estrutura do produto (SHOEMAKER et

al., 1992).

A tabela 5.1 apresenta os valores de coesividade do miolo das fatias de pão avaliadas. Pode-se perceber a manutenção da coesividade entre as formulações até o quarto dia de análise e, além disso, uma diminuição desse parâmetro com o tempo de estocagem.

Coesividade é a extensão ao qual um material pode ser deformado antes da ruptura (SILVA et al., 2009) e indica o quanto a massa está unida, ligada, e como a massa irá aderir em uma superfície de contato, por exemplo (AQUINO, 2012). A manutenção da coesividade em derivados de trigo está relacionada principalmente às interações moleculares dos componentes, principalmente pontes de hidrogênio (ESTELLER; LANNES, 2005).

Tabela 5.1: Parâmetro de coesividade dos pães avaliados.

	dia 0	dia 4	dia 8	dia 14
0.1% PROP	0,90±0,05 ^{A,a}	0,69±0,06 ^{B,a}	0,55±0,13 ^{B,a}	0,63±0,01 ^{B,a}
0.2% PROP	0,91±0,02 ^{A,a}	0,64±0,03 ^{B,a}	0,55±0,12 ^{B,a}	0,61±0,01 ^{B,a}
0.1% OEO	0,91±0,03 ^{A,a}	0,63±0,03 ^{B,a}	0,54±0,03 ^{C,a}	0,50±0,02 ^{C,b}
0.2% OEO	0,92±0,01 ^{A,a}	0,74±0,01 ^{B,a}	0,62±0,01 ^{C,a}	0,58±0,03 ^{C,a}
0.5% OEO	0,94±0,08 ^{A,a}	0,70±0,04 ^{B,a}	0,57±0,02 ^{B,a}	0,57±0,01 ^{B,a}

¹Letras iguais não diferem estatisticamente.

²Letras maiúsculas representam comparação entre os dias de avaliação.

³Letras minúsculas representam comparação entre as formulações.

A tabela 5.2 apresenta os valores de elasticidade (mm) do miolo das fatias dos pães elaborados. Houve alteração significativa nos valores de elasticidade apenas para as formulações contendo OEO ao longo dos dias de análise, no entanto, entre as formulações, não houve diferenças significativas.

A elasticidade é uma propriedade importante em massa de pão, porque é considerada um requisito para reter os gases formados pela fermentação (AQUINO, 2012). Com o decorrer da vida útil dos produtos de panificação, tem-se, normalmente, uma redução da elasticidade (ESTELLER; LANNES, 2005).

Arfa et al. (2007) relataram que o carvacrol pode interagir com a molécula de proteína através de ligações não covalentes, como ligações hidrofóbicas, considerando o caráter hidrofóbico desse composto aromático, e Gallina et al. (2008) relataram que a elasticidade é dependente da estrutura e do arranjo entre as moléculas de proteínas, sendo que estes rearranjos são evidenciados durante a estocagem, ou seja, essa interação é capaz de justificar a diferença resultante da adição de microcápsulas de OEO constatada entre os dias de análise.

Tabela 5.2: Parâmetro de elasticidade (mm) dos pães avaliados.

	dia 0	dia 4	dia 8	dia 14
0.1% PROP	1,15±0,01 ^{A,a}	1,21±0,05 ^{A,a}	1,13±0,01 ^{A,a}	1,22±0,02 ^{A,a}
0.2% PROP	1,12±0,01 ^{A,a}	1,20±0,01 ^{A,a}	1,08±0,09 ^{A,a}	1,20±0,00 ^{A,a}
0.1% OEO	1,12±0,02 ^{B,a}	1,18±0,01 ^{A,a}	1,09±0,00 ^{B,a}	1,14±0,01 ^{B,b}
0.2% OEO	1,15±0,02 ^{AB,a}	1,23±0,01 ^{A,a}	1,13±0,01 ^{B,a}	1,21±0,01 ^{A,a}
0.5% OEO	1,17±0,03 ^{AB,a}	1,22±0,00 ^{A,a}	1,11±0,00 ^{B,a}	1,22±0,01 ^{A,a}

⁴Letras iguais não diferem estatisticamente.

⁵Letras maiúsculas representam comparação entre os dias de avaliação.

⁶Letras minúsculas representam comparação entre as formulações.

A tabela 5.3 fornece os resultados de firmeza (g) dos pães, ou seja, a força aplicada para proporcionar deformação ou rompimento da amostra, sendo relacionada com a formulação do pão (ESTELLER; LANNES, 2005). Observa-se que a adição de microcápsulas conferiram maior firmeza ao pão, onde quanto maior foi o acréscimo na formulação, maior a firmeza do pão. Também evidenciou-se que a medida que o tempo de armazenamento aumentou, a firmeza dos pães aumentaram gradativamente. O aumento da firmeza durante a estocagem normalmente ocorre em pães devido a retrogradação do amido, desnaturação das proteínas e redução da água na massa após a cocção (ESTELLER; AMARAL; LANNES, 2004).

PEREIRA (1998) ao analisar o perfil de textura em pães de queijo afirmou que o envelhecimento é ocasionado pelo rearranjo das moléculas de amido devido à formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias adjacentes dos grupos hidroxilas. Visto que Laroque et al. (2018) constataram a capacidade do carvacrol em formar ligações de hidrogênio, pode-se inferir que esse componente, assim como os demais componentes presentes no OEO que possuem anel aromático e grupos fenólicos hidrofílicos, são capazes de formar pontes de hidrogênio (BOLZAN et al., 2015), afetando a textura dos pães e a vida de prateleira dos produtos de panificação, provocando endurecimento e ressecamento dos mesmos, e, conseqüentemente, influenciando nos resultados de gomosidade e mastigabilidade.

Tabela 5.3: Parâmetro de firmeza (g) dos pães avaliados.

	dia 0	dia 4	dia 8	dia 14
0.1% PROP	1101,4±7,8 ^{C,a}	2727,2±130,0 ^{B,ab}	3359,5±318,0 ^{B,c}	4174,5±10,6 ^{A,c}
0.2% PROP	808,1±46,3 ^{C,ab}	2294,9±249,7 ^{B,ab}	3281,8±10,7 ^{AB,bc}	3779,8±456,8 ^{A,bc}
0.1% OEO	622,4±14,6 ^{D,b}	2088,5±4,3 ^{C,b}	2669,8±195,4 ^{B,bc}	4428,6±375,8 ^{A,abc}
0.2% OEO	970,3±57,4 ^{D,ab}	2661,7±97,7 ^{C,ab}	4063,4±222,7 ^{B,a}	5227,9±171,2 ^{A,ab}
0.5% OEO	1034,0±81,2 ^{D,ab}	2781,1±196,8 ^{C,a}	4229,3±134,0 ^{B,ab}	5469,9±150,3 ^{A,a}

⁷Letras iguais não diferem estatisticamente.

⁸Letras maiúsculas representam comparação entre os dias de avaliação.

⁹Letras minúsculas representam comparação entre as formulações.

Resiliência é uma medida de quão bem um produto luta para recuperar sua posição original após aplicada uma força (TRINH; GLASGOW et al., 2012). A tabela 5.4 fornece os resultados de resiliência dos pães, a qual pode-se observar que até o oitavo dia de análise não houve diferença significativa entre as formulações e, ao longo da análise, houve diferença significativa entre os dias avaliados.

Durante o processamento e armazenamento dos pães, as mudanças ocorridas na estrutura do amido influenciam profundamente as suas propriedades funcionais e fisiológicas (COLONNA; LELOUP; BULEON, 1992). A principal mudança que ocorre durante o armazenamento é devido a retrogradação do amido, fenômeno no qual as moléculas do amido vão perdendo energia e as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes (ABATTI; JÚNIOR, 2011), e, como a resiliência mede a resposta da massa após a compressão, o produto retrogradado apresenta menor resiliência, pois as cadeias de amilose estão mais disponíveis para se rearranjarem durante o armazenamento do alimento, resultando em perda de água do sistema e endurecimento do produto final (MUNHOZ; WEBER; CHANG, 2004).

Tabela 5.4: Parâmetro de resiliência dos pães avaliados.

	dia 0	dia 4	dia 8	dia 14
0.1% PROP	0,23±0,01 ^{A,a}	0,10±0,01 ^{B,a}	0,07±0,01 ^{C,a}	0,08±0,00 ^{C,b}
0.2% PROP	0,26±0,01 ^{A,a}	0,10±0,01 ^{B,a}	0,08±0,01 ^{B,a}	0,09±0,00 ^{B,ab}
0.1% OEO	0,27±0,10 ^{A,a}	0,11±0,00 ^{B,a}	0,08±0,00 ^{D,a}	0,10±0,00 ^{C,a}
0.2% OEO	0,24±0,02 ^{A,a}	0,11±0,00 ^{B,a}	0,08±0,01 ^{B,a}	0,09±0,00 ^{B,ab}
0.5% OEO	0,24±0,00 ^{A,a}	0,10±0,00 ^{B,a}	0,07±0,00 ^{C,a}	0,08±0,00 ^{C,b}

¹⁰Letras iguais não diferem estatisticamente.

¹¹Letras maiúsculas representam comparação entre os dias de avaliação.

¹²Letras minúsculas representam comparação entre as formulações.

Gomosidade se traduz como a energia requerida para desintegrar um alimento até estar pronto para deglutição (TUNCEL et al., 2014), relacionando a firmeza com a coesividade. A tabela 5.5 fornece os resultados de gomosidade (g) dos pães. Pode-se observar que, como esperado devido aos valores de firmeza, a gomosidade também aumentou ao longo dos dias de análise e, de maneira geral, as maiores concentrações de OEO proporcionaram maiores valores de gomosidade.

Tabela 5.5: Parâmetro de gomosidade (g) dos pães avaliados.

	dia 0	dia 4	dia 8	dia 14
0.1% PROP	996,1±54,6 ^{B,a}	1904,4±71,1 ^{AB,a}	1849,7±631,6 ^{AB,a}	2625,7±16,3 ^{A,b}
0.2% PROP	739,0±26,2 ^{B,b}	1474,3±102,9 ^{A,b}	1807,2±747,2 ^{A,a}	2310,3±288,9 ^{A,b}
0.1% OEO	566,4±29,4 ^{C,b}	1320,5±53,7 ^{B,b}	1452,1±55,2 ^{B,a}	2269,3±57,3 ^{A,b}
0.2% OEO	889,4±66,0 ^{D,a}	1969,6±161,2 ^{C,a}	2607,4±65,8 ^{B,a}	3047,6±65,9 ^{A,a}
0.5% OEO	965,5±9,5 ^{C,a}	1946,8±33,0 ^{B,a}	2303,4±81,3 ^{B,a}	3243,5±233,0 ^{A,a}

¹³Letras iguais não diferem estatisticamente.

¹⁴Letras maiúsculas representam comparação entre os dias de avaliação.

¹⁵Letras minúsculas representam comparação entre as formulações.

Carr et al. (2006) define a mastigabilidade como a força necessária para desintegrar um alimento sólido até ficar pronto para ser engolido. A tabela 5.6 fornece os resultados de mastigabilidade ($\text{gf}\cdot\text{mm}^{-1}$) dos pães, na qual, assim como o parâmetro gomosidade, pode-se observar que houve diferença estatística ao longo dos dias de análise e, também, entre as formulações, influenciadas pelo aumento na firmeza dos pães.

Tabela 5.6: Parâmetro de mastigabilidade ($\text{gf}\cdot\text{mm}^{-1}$) dos pães avaliados.

	dia 0	dia 4	dia 8	dia 14
0.1% PROP	1148,0±75,9 ^{B,a}	2313,2±192,9 ^{AB,a}	2083,4±732,6 ^{AB,a}	3199,5±68,4 ^{A,ab}
0.2% PROP	830,4±24,9 ^{C,bc}	1765,2±112,4 ^{B,bc}	1950,7±969,1 ^{B,a}	2776,2±344,2 ^{A,b}
0.1% OEO	637,2±47,1 ^{C,c}	1563,1±71,1 ^{B,c}	1585,4±63,9 ^{B,a}	2590,8±100,0 ^{A,ab}
0.2% OEO	1024,9±91,3 ^{C,ab}	2402,9±175,2 ^{B,a}	2935,5±0,6 ^{B,a}	3693,3±126,9 ^{A,a}
0.5% OEO	1130,4±44,2 ^{C,a}	2375,0±33,4 ^{B,ab}	2558,5±89,9 ^{B,a}	3972,8±257,9 ^{A,ab}

¹⁶Letras iguais não diferem estatisticamente.

¹⁷Letras maiúsculas representam comparação entre os dias de avaliação.

¹⁸Letras minúsculas representam comparação entre as formulações.

De maneira geral, percebe-se que a adição de microcápsulas de OEO em pães influenciaram nos parâmetros de textura avaliados devido às interações deste componente com o alimento. Entretanto, pode-se afirmar que os resultados obtidos na determinação do perfil de textura não são agentes limitadores para a aplicação das microcápsulas de

OEO em pães de forma, visto que, majoritariamente, houveram diferenças significativas entre os dias de avaliação devido ao processo natural de retrogradação em produtos de panificação, enquanto as diferenças significativas entre as formulações foram menos recorrentes.

5.2.3 Volume Específico

Os valores de volume específico, massa e volume dos pães representam a relação entre o teor de sólidos e a fração de ar existente na massa assada (ESTELLER; LANNES, 2005). Quando avaliados esses parâmetros (Tabela 5.7), as amostras não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$), demonstrando que a adição das microcápsulas de OEO não influenciaram nestes fatores.

Tabela 5.7: Valores de volume, massa e volume específico dos pães.

	Volume (cm ³)	Massa (g)	Volume Específico (cm ³ .g ⁻¹)
0.1% PROP	420,0±2,0 ^a	166,47±0,73 ^a	2,53±0,03 ^a
0.2% PROP	413,3±5,7 ^a	167,07±1,84 ^a	2,47±0,03 ^a
0.1% OEO	413,3±5,0 ^a	167,43±0,98 ^a	2,47±0,02 ^a
0.2% OEO	420,0±3,0 ^a	169,75±0,68 ^a	2,47±0,03 ^a
0.5% OEO	413,3±5,7 ^a	167,96±0,96 ^a	2,46±0,04 ^a

¹⁹Letras iguais não diferem estatisticamente.

5.2.4 Análise Sensorial

Na tabela 5.8 estão apresentados os resultados de aceitação dos atributos aparência, cor, odor, sabor, sabor residual, textura e aceitação global dos pães elaborados.

Tabela 5.8: Média dos atributos avaliados

Atributo	0,1% PROP	0,2% PROP	0,1% OEO	0,2% OEO	0,5% OEO
Aparência	8,2±0,8 ^a	8,1±0,7 ^a	8,4±0,6 ^a	8,3±0,7 ^a	8,2±0,6 ^a
Cor	8,3±0,9 ^a	8,3±0,8 ^a	8,4±0,8 ^a	8,4±0,7 ^a	8,3±0,8 ^a
Odor	8,0±1,2 ^a	7,6±1,2 ^a	7,6±1,2 ^a	7,7±0,9 ^a	6,9±1,4 ^b
Sabor	8,1±1,0 ^a	7,9±1,1 ^a	7,8±1,0 ^a	7,8±1,1 ^a	6,4±1,3 ^b
Sabor Residual	7,9±1,2 ^a	7,6±1,4 ^{ab}	7,1±1,3 ^b	7,3±1,4 ^{ab}	5,9±1,6 ^b
Textura	7,9±1,0 ^a	7,7±1,3 ^a	8,0±1,0 ^a	8,0±1,1 ^a	7,8±1,2 ^a
Aceitação Global	8,1±0,8 ^a	7,8±1,0 ^a	7,7±1,0 ^a	7,6±0,9 ^a	6,6±1,4 ^b

²⁰Letras iguais não diferem estatisticamente.

Os resultados da análise sensorial demonstram aceitação dos produtos avaliados, evidenciado pelas médias obtidas de cada atributo. Porém, quando compara-se as formulações, observa-se uma leve redução da aceitação para a formulação com 0,5% de microcápsulas de OEO porém ainda foi superior a 70% de aceitação, que é o valor mínimo requerido para o teste de mercado. A redução no índice de aceitação dos pães com 0,5% de microcápsulas é devido, provavelmente, a evidenciação no acréscimo de sabor e odor trazido pelo OEO, como relatado por alguns provadores que descreveram a amostra: "com sabor de tempero", ou "o sabor não me desagradou, entretanto prefiro pães mais neutros ou doces". Por fim, provadores também sugeriram outras combinações para a formulação de maior concentração: "pode ser enjoativo para o consumo diário, porém ideal para torradas". O produto foi bem aceito sensorialmente, entretanto, como houve comparação com pães de formulação padrão, ficou evidente o adicional no sabor e no odor ocasionado pelas formulações contendo alta concentração de microcápsulas de OEO.

Azevedo et al. (2012) elaboraram um modelo polinomial para determinação da concentração máxima que não apresente redução na aceitação e intenção de compra ao avaliarem a adição de microcápsulas contendo OEO em queijo quark. Foram preparadas as concentrações de 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75% e 1,0% em relação à quantidade de massa de queijo quark. Foi utilizada escala de intenção de compra de cinco pontos, variando de "certamente não compraria" a "certamente compraria". Com o resultado da avaliação sensorial, foi possível elaborar uma relação linear entre o aumento da concentração de microcápsulas com a baixa intenção de compra, sendo possível determinar a concentração na qual não existe variação na nota de intenção de compra. Neste caso, adição de até 0,45%, ficando a mesma entre "talvez compraria/talvez não compraria" e "provavelmente compraria", com uma intenção de compra de 65%. Modelo semelhante pode ser feito para

encontrar a concentração máxima de microcápsulas de OEO que possam ser adicionadas aos pães sem que haja redução significativa na intenção de compra e aceitabilidade.

Referente à intenção de compra, 50% dos provadores demonstraram interesse em comprar o pão com 0,1% de microcápsulas contendo OEO, 42% comprariam a formulação com 0,2% e 2% comprariam a formulação com 0,5%. Para efeitos de comparação, o pão contendo o propionato de cálcio atingiu os índices de compra iguais a 72% e 48% para as formulações contendo 0,1% e 0,2%, respectivamente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A indústria que está atenta a transformações e que cria condições para antecipar tendências, propondo melhorias no desenvolvimento dos produtos, se sobressai. O novo perfil de consumidores, que priorizam produtos naturais, ditará o rumo que a indústria de alimentos seguirá nos próximos anos. Os testes realizados demonstraram que o processo de microencapsulação foi fundamental para manutenção dos componentes que apresentam características fungicidas do óleo essencial de orégano. A adição das microcápsulas de OEO nos pães também influenciaram na percepção sensorial, devido ao acréscimo de sabor e odor ao produto final, apresentando boa aceitação sensorial para até 0,2% de adição de microcápsulas em relação ao peso de farinha de trigo utilizada na fabricação dos pães.

A incorporação de microcápsulas contendo OEO em pães de forma apresentaram acréscimo na firmeza dos pães ao longo de 14 dias de avaliação, porém constatado o potencial antifúngico quando expostas fatias das formulações de pão ao método empregado. Neste sentido, os resultados obtidos no presente trabalho possibilitam concluir que as microcápsulas contendo OEO tem potencial para utilização como agente conservante de origem natural, porém são necessários estudos adicionais para melhoria de textura e sensorialidade dos pães com maior adição de microcápsulas.

Perspectivas futuras:

- Traçar o perfil do óleo essencial de orégano utilizado;
- Testar novos materiais de parede para diminuir sabor e odor causados pelas microcápsulas nos pães;
- Testar o efeito sinérgico entre o óleo essencial de orégano e o propionato de cálcio;
- Adicionar agentes naturais para melhoria de textura dos pães;
- Testar a adição de microcápsulas de carvacrol puro em pães e avaliar vida útil e sensorialidade.

REFERÊNCIAS

AACC, C. Approved methods of the american association of cereal chemists. **Methods**, v. 54, p. 21, 2000.

ABATTI, L.; JÚNIOR, N. D. Estudo do comportamento de compostos de pvc com adição de amido. **Polímeros**, SciELO Brasil, v. 21, n. 2, p. 151–155, 2011.

ABIP. **Indicadores da Panificação e Confeitaria Brasileira em 2018**. 2018. Disponível em: <<http://www.abip.org.br/>>. Acessado em: 24 out. 2019.

ALMEIDA, E. **Efeito da adição de fibra alimentar sobre a qualidade de pão pré-assado congelado. 2006, 328p**. Thesis (PhD) — Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia, 2006.

ALMEIDA, P. P. d. et al. Desenvolvimento de embalagem ativa antimicrobiana para pães de forma. 2017.

ANGELICO, A. et al. Avaliação in vitro da atividade fungitóxica de extratos de condimentos na inibição de fungos isolados de pães artesanais. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 33, n. 2, 2009, 2015.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 1997. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acessado em: 21 out. 2019.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 1998. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acessado em: 17 nov. 2019.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 1999. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/res0382_05_08_1999.html>. Acessado em: 25 nov. 2019.

AQUINO, V. C. d. **Estudo da estrutura de massas de pães elaboradas a partir de diferentes processos fermentativos**. Thesis (PhD) — Universidade de São Paulo, 2012.

ARAUJO, 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*. **Arq. Inst. Biol**, p. e0702014–e0702014, 2016.

ARFA, A. B. et al. Coating papers with soy protein isolates as inclusion matrix of carvacrol. **Food Research International**, Elsevier, v. 40, n. 1, p. 22–32, 2007.

ARFA, A. B. et al. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Letters in applied microbiology**, Wiley Online Library, v. 43, n. 2, p. 149–154, 2006.

AUGUSTIN, M. A.; HEMAR, Y. Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chemical society reviews**, Royal Society of Chemistry, v. 38, n. 4, p. 902–912, 2009.

AUGUSTIN, M. A.; SANGUANSRI, L. **Encapsulation of food ingredients**. [S.l.]: Google Patents, 2008. US Patent 7,374,788.

AXEL, C. Isolation and characterisation of antifungal compounds from lactic acid bacteria and their application in wheat and gluten-free bread. University College Cork, 2015.

AXEL, C. et al. Application of lactobacillus amylovorus dsm19280 in gluten-free sourdough bread to improve the microbial shelf life. **Food Microbiology**, Elsevier, v. 47, p. 36–44, 2015.

AZEREDO, H. d. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2008.

AZEVEDO, V. M. et al. Potencial de aplicação de microcápsulas de óleo essencial de orégano em queijo quark. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 386, p. 5–12, 2012.

BELLETTI, N. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on saccharomyces cerevisiae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, ACS Publications, v. 52, n. 23, p. 6932–6938, 2004.

BELLO, F. D. et al. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain lactobacillus plantarum fst 1.7. **Journal of Cereal Science**, Elsevier, v. 45, n. 3, p. 309–318, 2007.

BÖGER, B. R.; GEORGETTI, S. R.; KUROZAWA, L. E. Microencapsulation of grape seed oil by spray drying. **Food Science and Technology**, SciELO Brasil, n. AHEAD, 2018.

BOLZAN, A. A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo de orégano livre e em nanoemulsões. **Disciplinarum Scientia Naturais e Tecnológicas**, v. 16, n. 2, p. 325–332, 2015.

BOTREL, D. A. et al. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Ceres**, SciELO Brasil, v. 57, n. 3, 2015.

BRITO, E. Dossiê conservantes. **Food Ingredients Brasil, São Paulo**, n. 18, 2011.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, Elsevier, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

CAETANO, K. d. S. Utilização de amido, óleo de orégano e extrato de resíduo de abóbora para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos. 2016.

CALO, J. R. et al. Essential oils as antimicrobials in food systems—a review. **Food Control**, Elsevier, v. 54, p. 111–119, 2015.

CAMPO, C. d. Nanoencapsulamento de óleo de chia e zeaxantina utilizando mucilagens como material estruturante: desenvolvimento, caracterização e aplicação. 2018.

CARDOSO, R. C. et al. Potencial antimicrobiano do óleo da folha de eucalyptus urograndis frente stafilococcus aureus. **Id on Line REVISTA MULTIDISCIPLINAR E DE PSICOLOGIA**, v. 13, n. 43, p. 989–1002, 2019.

CARR, L. G. et al. Physical, textural and sensory characteristics of 7-day frozen part-baked french bread. **LWT-Food Science and Technology**, Elsevier, v. 39, n. 5, p. 540–547, 2006.

CARVALHO, J. S. R. **Encapsulamento de óleo essencial de *origanum virens* l. em matrizes de gelatina e gelatina/sacarose**. Thesis (PhD), 2009.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current opinion in biotechnology**, Elsevier, v. 18, n. 2, p. 184–190, 2007.

CHORIANOPOULOS, N. et al. Essential oils of *satureja*, *origanum*, and *thymus* species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, ACS Publications, v. 52, n. 26, p. 8261–8267, 2004.

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**, Elsevier, v. 298, p. 44–50, 2019.

COLONNA, P.; LELOUP, V.; BULEON, A. Limiting factors of starch hydrolysis. **European journal of clinical nutrition**, v. 46, p. S17–32, 1992.

COSTA, J. M. G. da et al. Matrix structure selection in the microparticles of essential oil oregano produced by spray dryer. **Journal of microencapsulation**, Taylor & Francis, v. 30, n. 8, p. 717–727, 2013.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. Óleos essenciais e química fina. **Química nova**, v. 16, n. 3, p. 224–228, 1993.

CUI, H. et al. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. **Industrial Crops and Products**, Elsevier, v. 139, p. 111498, 2019.

DAVIDOVIĆ, D. N. et al. The application of natural organic compounds in bakery industry. **Hemijaska industrija**, v. 64, n. 5, p. 411–421, 2010.

DEANS, S.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International journal of food microbiology**, Elsevier, v. 5, n. 2, p. 165–180, 1987.

DEBONNE, E. et al. The influence of natural oils of blackcurrant, black cumin seed, thyme and wheat germ on dough and bread technological and microbiological quality. **LWT**, Elsevier, v. 93, p. 212–219, 2018.

DENGATE, S.; RUBEN, A. Controlled trial of cumulative behavioural effects of a common bread preservative. **Journal of Paediatrics and Child Health**, Wiley Online Library, v. 38, n. 4, p. 373–376, 2002.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying technology**, Taylor & Francis, v. 23, n. 7, p. 1361–1394, 2005.

ESTELLER, M. S.; AMARAL, R. L.; LANNES, S. C. D. S. Effect of sugar and fat replacers on the texture of baked goods. **Journal of texture studies**, Wiley Online Library, v. 35, n. 4, p. 383–393, 2004.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. da S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, n. 4, p. 802–806, 2005.

FERNANDES, L. P.; CANDIDO, R. C.; OLIVEIRA, W. P. Spray drying microencapsulation of lippia sidoides extracts in carbohydrate blends. **Food and bioproducts processing**, Elsevier, v. 90, n. 3, p. 425–432, 2012.

FIESP. **Brasil Food Trends 2020**. 2010. Disponível em: <<http://www.brazilfoodtrends.com.br>>. Acessado em: 27 out. 2019.

FIGUÉRÉDO, G.; CHALCHAT, J.-C.; PASQUIER, B. Studies of mediterranean oregano populations ix: chemical composition of essential oils of seven species of oregano of various origins. **Journal of Essential Oil Research**, Taylor & Francis, v. 18, n. 4, p. 411–415, 2006.

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

GALLINA, D. et al. Influence of storage temperature on the texture profile and colour characteristics of uht requeijão cremoso. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 3, p. 169–174, 2008.

GANDRA, K. M. et al. Aplicação de lipase e monoglicerídeo em pão de forma enriquecido com fibras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 28, n. 1, p. 182–192, 2008.

GOUBET, I.; QUERE, J.-L. L.; VOILLEY, A. Retention of aroma compounds by carbohydrates: influence of their physicochemical characteristics and of their physical state. a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, ACS Publications, v. 46, n. 5, p. 1981–1990, 1998.

GUTIERREZ, L. et al. New antimicrobial active package for bakery products. **Trends in Food Science & Technology**, Elsevier, v. 20, n. 2, p. 92–99, 2009.

HOMAYOUNI, A. et al. Effect of lecithin and calcium chloride solution on the microencapsulation process yield of calcium alginate beads. **IRANIAN POLYMER JOURNAL (ENGLISH)**, 2007.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in microbiology**, Frontiers, v. 3, p. 12, 2012.

KORDALI, S. et al. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from turkish origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. **Bioresource Technology**, Elsevier, v. 99, n. 18, p. 8788–8795, 2008.

KRINGEL, D. H. Encapsulação do óleo essencial de laranja em β -ciclodextrina: Ação antifúngica e aplicação em bolos. Universidade Federal de Pelotas, 2019.

LANCIOTTI, R. et al. Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits. **Trends in food science & technology**, Elsevier, v. 15, n. 3-4, p. 201–208, 2004.

LAROQUE, D. A. et al. Desenvolvimento de filme antimicrobiano de acetato de celulose incorporado com carvacrol. 2018.

LEGAN, G. Mould spoilage of bread: the problem and some solutions. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 32, p. 33–53, 1993.

LEVINSKAITE, L. Susceptibility of food-contaminating penicillium genus fungi to some preservatives and disinfectants. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, -, v. 19, n. 1, 2012.

LOPES, N. A. Desenvolvimento de lipossomas nanométricos para armazenamento e liberação controlada de peptídeos antimicrobianos. 2018.

MELO, L. L. M. M. d. et al. Síntese enzimática dos ésteres de aroma butirato e valerato de citronelila por lipase de *rhizopus* sp. [sn], 2004.

MORRIS, A. Metabolic safety of common preservative under scrutiny. **Nature Reviews Endocrinology**, Nature Publishing Group, v. 15, n. 7, p. 378, 2019.

MUNHOZ, M. P.; WEBER, F. H.; CHANG, Y. K. Influência de hidrocolóides na textura de gel de amido de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, SciELO Brasil, v. 24, n. 3, p. 403–406, 2004.

NASCIMENTO, A. C. et al. Pão do norte de Portugal: um estudo interventivo com vista a reduzir o teor de sal no pão. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP, 2019.

NASCIMENTO, P. F. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev Bras Farmacogn**, SciELO Brasil, v. 17, n. 1, p. 108–13, 2007.

PASSARINHO, A. T. P. et al. Sliced bread preservation through oregano essential oil-containing sachet. **Journal of Food Process Engineering**, Wiley Online Library, v. 37, n. 1, p. 53–62, 2014.

PEREIRA, A. J. G. Fatores que afetam a qualidade do pão de queijo. **Belo Horizonte: CETEC**, 1998.

PEREIRA, K. C. et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, SciELO Brasil, v. 21, 2018.

PEREIRA, M. C. et al. Conservação de produtos de panificação pela adição de condimentos em pó. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, p. 1514–1520, 2002.

PEREIRA, M. C. et al. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Editora da Universidade Federal de Lavras, v. 30, n. 4, p. 731–738, 2006.

PINILLA, C. M. B.; THYS, R. C. S.; BRANDELLI, A. Antifungal properties of phosphatidylcholine-oleic acid liposomes encapsulating garlic against environmental fungal in wheat bread. **International journal of food microbiology**, Elsevier, v. 293, p. 72–78, 2019.

PORTILHO, F.; CASTAÑEDA, M.; CASTRO, I. R. R. d. A alimentação no contexto contemporâneo: consumo, ação política e sustentabilidade. **Ciência & Saúde Coletiva**, SciELO Public Health, v. 16, p. 99–106, 2011.

RAVIMANNAN, N.; SEVVEL, P.; SAARUTHARSHAN, S. Study on fungi associated with spoilage of bread. **Int. J. Adv. Res. Biol. Sci**, v. 3, n. 4, p. 165–167, 2016.

RIZZELLO, C. G. et al. Long-term fungal inhibition by pisum sativum flour hydrolysate during storage of wheat flour bread. **Appl. Environ. Microbiol.**, Am Soc Microbiol, v. 81, n. 12, p. 4195–4206, 2015.

ROSA, C. G. da et al. Application in situ of zein nanocapsules loaded with origanum vulgare linneus and thymus vulgaris as a preservative in bread. **Food Hydrocolloids**, Elsevier, v. 99, p. 105339, 2019.

RYAN, L.; BELLO, F. D.; ARENDT, E. The use of sourdough fermented by antifungal lab to reduce the amount of calcium propionate in bread. **International journal of food microbiology**, Elsevier, v. 125, n. 3, p. 274–278, 2008.

SANTOS, J. L. P. et al. Modelagem preditiva da deterioração de pães integrais multigrãos por fungos filamentosos. [sn], 2015.

SEBRAE. Boas práticas na panificação e na confeitaria-da produção ao ponto de venda. 2019.

SHELEF, L. Antimicrobial effects of spices 1. **Journal of food safety**, Wiley Online Library, v. 6, n. 1, p. 29–44, 1984.

SHOEMAKER, C. F. et al. Rheological characterization of dairy products. **Food technology (USA)**, 1992.

SILVA, C. et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: Ii. aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 39, n. 1, p. 1–20, 2003.

SILVA, J. P. L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a salmonella enteritidis. **Embrapa Solos-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 30, p. 136-141, 2010.

SILVA, L. et al. Desenvolvimento de pão de fôrma com a adição de farinha de “okara”. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 315–322, 2009.

SILVA, P. T. d. et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, SciELO Brasil, v. 44, n. 7, p. 1304–1311, 2014.

SMITH, R. et al. A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. **Food and chemical toxicology**, Elsevier, v. 43, n. 3, p. 345–363, 2005.

SOUSA, A. D. et al. Microencapsulação de sucos e polpas de frutas por spray drying: uma revisão. **Revista Brasileira de produtos agroindustriais, Campina Grande**, v. 17, n. 3, p. 327–338, 2015.

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**, Wiley Online Library, v. 94, n. 4, p. 665–674, 2003.

TRAJANO, V. N. et al. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, SciELO Brasil, v. 29, n. 3, p. 542–545, 2009.

TRINH, K. T.; GLASGOW, S. et al. On the texture profile analysis test. **Chemeca 2012: Quality of life through chemical engineering: 23-26 September 2012, Wellington, New Zealand**, Engineers Australia, p. 749, 2012.

TUNCEL, N. B. et al. The effect of infrared stabilized rice bran substitution on b vitamins, minerals and phytic acid content of pan breads: Part ii. **Journal of Cereal Science**, Elsevier, v. 59, n. 2, p. 162–166, 2014.

TÜRKOĞLU, Ş. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of allium cepa. **Food and Chemical Toxicology**, Elsevier, v. 46, n. 6, p. 2035–2041, 2008.

UMBELINO, D. C.; ROSSI, E. A.; CARDELLO, H. M. A. B. Desenvolvimento de processo de microencapsulação do feso₄. 7h₂o e sua influência nas propriedades sensoriais do "iogurte" de soja. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 12, n. 1, 2009.

VENKATESAN, P. et al. Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, Citeseer, v. 1, n. 4, p. 26–35, 2009.

YANG, J.; XIAO, J.-x.; DING, L.-z. An investigation into the application of konjac glucomannan as a flavor encapsulant. **European Food Research and Technology**, Springer, v. 229, n. 3, p. 467–474, 2009.

YOSHII, H. et al. Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Elsevier, v. 2, n. 1, p. 55–61, 2001.

ZANANDREA, I. et al. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimentos micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, SciELO Brasil, v. 14, p. 14–16, 2004.

ZARDO, I. Extração e microencapsulação de compostos antociânicos do bagaço de mirtilo (*vaccinium corymbosum* l.). 2014.

ZUANON, L. A. C. Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (*curcuma longa* l.) em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado. Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2012.