



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM AGROINDÚSTRIA**

BERNADETE DE OLIVEIRA COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE SACHÊ ANTIMICROBIANO À BASE DE
EXTRATO DE ALHO ROXO (*Allium sativum* L.) PARA CONSERVAÇÃO DE PÃO
DE FORMA**

**BANANEIRAS - PB
2024**

BERNADETE DE OLIVEIRA COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE SACHÊ ANTIMICROBIANO À BASE DE
EXTRATO DE ALHO ROXO (*Allium sativum* L.) PARA CONSERVAÇÃO DE PÃO
DE FORMA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do
Curso de Bacharelado em Agroindústria, da Universidade
Federal da Paraíba, em atendimento às exigências para obtenção
do Grau de Bacharela em Agroindústria.

Orientadora. Profa. Dra. Solange de Sousa

**BANANEIRAS - PB
2024**

Catálogo na publicação
Seção de publicação

C838d Costa, Bernadete de Oliveira.

Desenvolvimento de sachê antimicrobiano à base de extrato de alho roxo
(*allium sativum* L.) para conservação de pão de forma / Bernadete de Oliveira
Costa. - Bananeiras, 2024.

42 f. : il.

Orientação: Solange de Sousa. TCC
(Graduação) - UFPB/CCHSA.

1. Conservação. 2. Sachê. 3. Embalagem antimicrobiana. I. Sousa,
Solange de. II. Título.

UFPB/BSPJAT

CDU 664.6

BERNADETE DE OLIVEIRA COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE SACHÊ ANTIMICROBIANO À BASE DE
EXTRATO DE ALHO ROXO (*Allium sativum* L.) PARA CONSERVAÇÃO DE PÃO
DE FORMA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Bacharelado em Agroindústria da Universidade Federal da Paraíba, em atendimento às exigências para a obtenção do Grau de Bacharela em Agroindústria.

Monografia julgada e aprovada em 24/04/2024

Comissão Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **SOLANGE DE SOUSA**
Data: 29/04/2024 16:50:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Solange de Sousa - DGTA/CCHSA/UFPB
Orientadora

Documento assinado digitalmente
 **ANELY MACIEL DE MELO**
Data: 30/04/2024 11:12:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Anely Maciel de Melo - DGTA/CCHSA/UFPB
Examinadora

Documento assinado digitalmente
 **ELIEL NUNES DA CRUZ**
Data: 30/04/2024 13:25:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Técnico de Laboratório. MSc. Eliel Nunes da Cruz. DGTA/CCHSA/UFPB
Examinador

**BANANEIRAS - PB
2024**

A Deus!

Aos meus avós e minha mãe, pelo amor, apoio e incentivo incondicional ao longo desta jornada, por sempre terem compreendido as minhas ausências e por estarem sempre ao meu lado.

À minha família como um todo, aos meus amigos, e a todos que fizeram parte do caminho, pela força e pelas boas energias compartilhadas. Este trabalho é dedicado a todos vocês que tornaram possível este momento.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Em primeiro lugar, agradeço à minha família pelo amor incondicional, apoio emocional e incentivo constante ao longo desta jornada acadêmica. Suas palavras de encorajamento foram o alicerce que sustentou meu progresso.

Aos meus amigos e colegas, agradeço por sua compreensão, paciência e apoio nos momentos de desafio. Suas discussões estimulantes e trocas de ideias enriqueceram significativamente este trabalho.

Não posso deixar de mencionar meus professores e orientadores, cuja *expertise*, orientação e *feedback* crítico foram cruciais para o desenvolvimento deste trabalho. Suas contribuições foram inestimáveis e moldaram não apenas o resultado final, mas também o meu crescimento pessoal e acadêmico.

Por fim, agradeço a todos os que direta ou indiretamente contribuíram para este projeto, seja por meio de recursos, inspiração ou simplesmente por acreditarem em mim. Este trabalho é resultado do esforço coletivo de muitas pessoas, e sou profundamente grata por fazer parte de uma comunidade tão solidária e colaborativa.

Obrigada!

“A jornada de mil milhas começa com um único passo.”

Lao Tsé

RESUMO

O pão é um dos alimentos mais consumidos pela humanidade. Em sua forma fatiada, o pão tem maior risco de deterioração, uma vez que as superfícies de corte podem ser contaminadas e o envoltório permite a condensação de umidade durante o transporte e armazenamento. Uma desvantagem disso é que a deterioração microbiana acarreta perdas econômicas relevantes. O uso de embalagem que tem a capacidade de interagir diretamente com o alimento fornece condições favoráveis e características para a melhoria da qualidade do produto embalado. Ou seja, a incorporação de substâncias antimicrobianas em superfícies das embalagens é um conceito inovador e tem crescido bastante nas últimas décadas; essas embalagens são denominadas ativas. Estudos envolvendo substâncias antifúngicas, visando a sua utilização na conservação de alimento, aqueles obtidos de fontes naturais têm recebido atenção especial, devido às mudanças de hábitos do consumidor, com isso, existe um número grande de espécies vegetais que são consideradas antifúngicas, dentre elas a atividade antimicrobiana do alho já se encontra bem comprovada. Deste modo, objetivou-se com este trabalho desenvolver um sachê antimicrobiano à base de extrato de alho roxo para pão de forma e avaliar a sua ação conservante. Os sachês foram desenvolvidos em material TNT com a incorporação do extrato oleoso em acetato de celulose, o extrato foi obtido dos bulbos dos alhos roxo e foram adicionados nas concentrações de 5 e 10%. Foi desenvolvido também um sachê-controle apenas com adição do acetato de celulose, e foi avaliada também a ação antifúngica do extrato oleoso pela inibição do crescimento *in vitro* para o fungo *Penicillium* spp. nas mesmas concentrações. Nas amostras de pães os sachês nas duas concentrações apresentaram baixa ou nenhuma eficiência no crescimento de bolores e leveduras no sexto dia, assim como o tratamento-controle, sendo possível notar o aparecimento de colônias cinzas esverdeadas de fungos. No entanto, ambas as concentrações do extrato oleoso apresentaram elevada atividade antifúngica quando testada *in vitro* contra o fungo *Penicillium* spp. expressa pelo halo de inibição de 38,5 mm para concentração a 5% e 36 mm para concentração a 10%. Com esse resultado, sugere-se que adequações sejam realizadas no sachê incorporado com o extrato oleoso, pois o extrato oleoso é rico em compostos com comprovadas ação antimicrobiana.

Palavras-chave: Conservação. Sachê. Embalagem antimicrobiana.

ABSTRACT

Bread is one of the most consumed foods by humanity and microbial deterioration causes significant economic losses. Traditionally sliced loaf bread is at greater risk of spoilage, as cut surfaces can become contaminated and the wrap allows moisture to condense during transport and storage. The use of packaging that has the ability to interact directly with the food, providing favorable conditions and characteristics to improve the quality of the packaged product, that is, through the incorporation of antimicrobial substances on packaging surfaces, is an innovative concept and has grown quite a lot in recent decades; These packages are called active. Studies involving antifungal substances, aiming at their use in food preservation, those obtained from natural sources have received special attention, due to changes in consumer habits, as a result, there are a large number of plant species that are considered antifungal, including The antimicrobial activity of garlic has already been well proven. Therefore, the objective of this work was to develop an antimicrobial sachet based on purple garlic extract for sliced bread and evaluate its preservative action. The sachets were developed in TNT material with the incorporation of the oily extract in cellulose acetate, the extract was obtained from purple garlic bulbs and were added in concentrations of 5 and 10%, a control sachet was also developed with just the addition of acetate of cellulose, the antifungal action of the oily extract was also evaluated by inhibiting the in vitro growth of the fungus *Penicillium* spp. at the same concentrations. In the bread samples, the sachets in both concentrations showed low or no efficiency in the growth of molds and yeasts on the sixth day; as well as the control treatment and it is possible to notice the appearance of greenish gray colonies of fungi. However, both concentrations of the oily extract showed high antifungal activity when tested in vitro against the fungus *Penicillium* spp. expressed by the inhibition halo of 38.5 mm for 5% concentration and 36 mm for 10% concentration. With this result, it is suggested that adjustments be made to the sachet incorporated with the oily extract, as the oily extract is rich in compounds with proven antimicrobial action.

Key-words: Conservation. Sachet. Antimicrobial packaging.

.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL	12
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1	PÃO DE FORMA	14
3.2	EMBALAGENS ATIVAS.....	15
3.3	ANTIMICROBIANOS NATURAIS	16
3.4	EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS.....	17
3.5	ALHO ROXO	17
3.6	ALICINA	18
4.	METODOLOGIA.....	19
4.1	MATÉRIA-PRIMA E LOCAL DO EXPERIMENTO	19
4.2	PRODUÇÃO DOS PÃES	19
4.3	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E DO EXTRATO VEGETAL	21
4.4	PREPARO DO SACHÊ	23
4.5	TRATAMENTOS UTILIZADOS NO PÃO DE FORMA	23
4.6	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	24
4.6.1	Atividade antifúngica <i>in vitro</i> do extrato oleoso	24
4.7	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	25
4.7.1	Análise de pH	25
4.7.2	Determinação de atividade de água (aw)	26
4.8	ANÁLISE FÍSICA	26
4.8.1	Teste de compressão	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	27
5.1.1	Atividade antifúngica do extrato oleoso	29
5.2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	32
5.2.1	pH e atividade de água.....	32
5.3	ANÁLISE FÍSICA	33
5.3.1	Teste de compressão - avaliação da textura dos pães	33
6	CONCLUSÃO.....	35
7	REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2022) pão é o produto obtido do processo de cocção de farinha adicionada de líquido, fermentados ou não, podendo apresentar cobertura, recheio, formato e textura diverso. A classificação "pão de forma" é atribuída ao produto obtido pela cocção da massa em formas, apresentando miolo elástico e homogêneo, com poros finos e casca fina e macia (BRASIL, 2006). Existe um crescimento no consumo do pão de forma quando comparado ao consumo do pão francês. Em 2019 o pão de forma se fez presente em 81% dos lares brasileiros, onde cerca de 537 mil toneladas foram processadas e vendidas ao comércio interno. Acredita-se que a alta procura se deu pelo aumento da vida útil, devido às novas formulações e/ou processos, à praticidade e também ao aumento no preço do pão francês (Abimapi, 2020).

O pão de forma tradicionalmente fatiado e embalado em embalagens plásticas de polietileno tem maior risco de deterioração, uma vez que as superfícies de corte podem ser contaminadas e o envoltório permite a condensação de umidade devido a flutuações de temperatura durante o transporte e armazenamento (Gerez *et al.*, 2009). O uso de embalagem que tem a capacidade de interagir diretamente com o alimento, fornecendo condições favoráveis e características para a melhoria da qualidade do produto embalado, ou seja, por meio da incorporação de substâncias antimicrobianas em superfícies das embalagens é um conceito inovador e tem crescido bastante nas últimas décadas (Matan *et al.*, 2006).

Essas embalagens são denominadas ativas, e entre vários exemplos podem ser citados filmes antimicrobianos, filmes antioxidantes, sachês absorvedores de etileno, de oxigênio, de umidade e sachês indicadores de controle de temperatura (Lopes, 2007).

O ácido ascórbico e seus sais de sódio e potássio são amplamente utilizados na inibição de fungos filamentosos em produtos de panificação, porém se forem adicionados à massa, prejudicam a ação das leveduras durante a fermentação e por este motivo, são utilizados por meio de pulverização sobre os produtos já forneados. Estudos envolvendo substâncias antifúngicas, visando a sua utilização na conservação de alimentos, aqueles obtidos de fontes naturais têm recebido atenção especial, devido às mudanças de hábitos do consumidor, que estão cada vez mais buscando produtos saudáveis (Tajkarimi; Ibrahim; Gyawali, 2014).

Existe um número grande de espécies vegetais que são consideradas antifúngicas. (Oliveira *et al.*, 2018). Dentre tantas espécies vegetais, o alho (*Allium sativum* L.) é uma especiaria que é cultivada desde a antiguidade, sendo produzido inicialmente na Ásia Central

e se difundido mundialmente, bastante utilizado como alimento ou fármaco (Fратиanni *et al.*, 2016; Leonêz, 2008). A atividade antimicrobiana do alho já se encontra bem comprovada (Domingo; Lopes-Brea, 2004; Mantis *et al.*, 1978; Shelef, 1984). As aplicações práticas do alho, baseada em sua alta capacidade de inibição de crescimento e dissolução das células bacteriana foram propostas (Cutler; Wilson, 2004). O composto alicina e os tiosulfonatos foram apontados como sendo os maiores componentes inibitórios presentes no alho (Sofos *et al.*, 1998).

Pensando em uma alternativa natural que possa atender às novas exigências dos consumidores, tendo em vista os compostos antifúngicos presentes nos bulbos do alho e priorizando as pesquisas mais recentes a respeito das embalagens ativas, no presente trabalho objetivou-se o desenvolvimento de um sachê antimicrobiano à base de extrato de alho roxo para embalagens de pães de forma, a fim de verificar a ação do extrato no prolongamento da vida útil dos pães

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um sachê antimicrobiano à base de extrato de alho roxo para pão de forma e avaliar a sua ação conservante.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Elaborar o pão de forma;
- Obter o extrato dos bulbos do alho roxo (*Allium sativum* L);
- Avaliar o tempo de prateleira do pão de forma quando adicionado o sachê de extrato de alho roxo;
- Realizar as análises físicas, físico-químicas e microbiológicas pertinentes.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PÃO DE FORMA

O pão é um alimento muito antigo, que teve origem nos primórdios da população, período em que o homem ainda era nômade e desde então continua sendo bastante consumido em todo o mundo. O Brasil só veio a conhecer o pão a partir no século XIX, através das atividades de panificação de imigrantes italianos, sendo eles os responsáveis pela introdução de padarias no país, especialmente em São Paulo (Nascimento *et al.*, 2019).

Esse alimento destaca-se principalmente pelo seu valor nutricional, sendo considerado uma boa fonte carboidratos, ferro, magnésio, fibras alimentares e vitaminas do complexo B, que são importantes para o desenvolvimento e saúde do organismo (Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos - Taco, 2011). A disponibilidade nas mais variadas padarias e supermercados do país, o excelente sabor, preço e valor nutricional fazem do pão um alimento de grande popularidade (Battochio, 2006).

Segundo a Federation of Bakers Ltd (2021), o pão de forma foi desenvolvido em 1912, quando o norte-americano Otto Rohwedder criou a primeira máquina de fatiar pães. Cento e doze anos depois, este tipo de pão continua a ser bastante procurado e consumido até os dias de hoje. O pão de forma é fabricado seguindo etapas semelhantes a diversos outros tipos de pães, como a pesagem e mistura dos ingredientes, desenvolvimento da rede do glúten, divisão e modelagem da massa, fermentação, forneamento, resfriamento e embalagem.

De acordo com Faria (2003), a formulação é um ponto crítico do processo de panificação, pois, se for incorreta, pode comprometer a qualidade do produto final. A mistura dos ingredientes é a etapa que garante o desenvolvimento do glúten através do trabalho mecânico sobre os constituintes da massa até que esteja bem coesa, homogênea, lisa e que se desprenda das mãos e paredes da masseira.

Para que ocorra a fermentação é preciso que se acrescente o fermento biológico na preparação da massa; esse ingrediente é resultante de culturas puras da levedura *Saccharomyces cerevisiae* que age na massa produzindo etanol, CO₂, ácidos orgânicos, entre outros compostos. Durante o forneamento empregam-se temperaturas entre 210 °C a 280 °C por 20 a 40 minutos e ocorrem transformações como a fixação da estrutura do miolo, produção de cor e aroma, aumento do volume, formação de casca e perda de peso do pão (Faria, 2003).

As etapas posteriores ao fornecimento, como resfriamento e embalagem complementam o ciclo de produção. Estas são etapas importantes e que devem ser executadas com rigor para que se mantenha a qualidade do produto final (Jens, 2011).

3.2 EMBALAGENS ATIVAS

Nos últimos anos, as indústrias de alimentos vêm sofrendo grandes mudanças para se adaptarem às novas exigências dos consumidores, que vão além de conter e proteger os produtos, incluindo a manutenção da qualidade, o frescor, a segurança do produto embalado, monitorar e indicar as propriedades do alimento. Como forma de preencher todos estes requisitos, um novo sistema de embalagem vem sendo desenvolvida, as chamadas “embalagens ativas”. Embalagem ativa é um conceito inovador que combina avanços na tecnologia de alimentos, produção de alimentos seguros, embalagens e ciências dos materiais em um esforço para melhor atender às exigências do consumidor por alimentos mais frescos e seguros (Matan *et al.*, 2006).

As embalagens ativas podem ser classificadas em dois tipos de sistemas: os sistemas absorvedores e os emissores. Os sistemas absorvedores visam remover os compostos indesejáveis do espaço livre da embalagem ou ao redor do alimento, tais como oxigênio, etileno, dióxido de carbono, vapores de água e outros compostos específicos que aceleram a degradação do produto alimentício. Os sistemas emissores incorporam substâncias ao material da embalagem (plástico, papel, etc.), como por exemplo, dióxido de carbono, etanol, antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes e conservantes e estes são liberados gradativamente no alimento (Braga; Peres, 2010; Kruijf *et al.*, 2002; Muriel-Galet *et al.*, 2015). São várias as formas estruturais das embalagens ativas para ambos os tipos de sistemas, tais como: cartões, filmes, etiquetas, sachês e vedantes para tampas “liners” (Kerry *et al.*, 2006).

A liberação de aditivos por embalagens ativas aumenta a segurança do alimento e, por consequência, a segurança do consumidor, já que esses compostos não são adicionados ao alimento diretamente, mas sim, em todo caso são liberados de maneira controlada, com isso estão presentes em quantidades menores e apenas onde sua presença é requerida, como na superfície do produto, onde a maior parte das deteriorações ocorre (Appendini; Hotchkiss, 2002).

Segundo Quintavalla e Vicini (2002), outra vantagem dos sistemas de embalagens ativas está associada ao fato de que alguns agentes antimicrobianos adicionados ao alimento

tendem a perder um pouco da sua atividade, em razão da composição do produto, do tempo, por oxidação, liberação controlada, entre outros. No entanto, seu efeito na superfície do alimento pode ser limitado. Sendo assim, a aplicabilidade das embalagens ativas pode assegurar melhor a eficácia do composto bactericida ou bacteriostático, do antioxidante ou do aromatizante por acontecer à migração de forma lenta do agente da embalagem para o alimento, o que auxilia na manutenção de concentrações mais altas na superfície do produto.

Em inúmeras pesquisas a eficiência das embalagens antimicrobianas, inclusive incorporadas com antimicrobianos naturais, foram constatadas e, em uma dessas pesquisas foi avaliada a inibição de bactérias em carne processada com aplicação de filme antimicrobiano preparado com quitosana e adicionado de ácido propiônico, láurico e acético e aldeído cinâmico, e os resultados demonstraram que o crescimento de bactérias da família *Enterobacteriaceae* e de *Serratia liquefaciens* foi tardio ou completamente inibido com a aplicação dos filmes, principalmente no filme de quitosana adicionado de aldeído cinâmico (Melo *et al.*, 2002; Ouattara *et al.*, 2000). As embalagens antimicrobianas atuam na inibição ou redução da microbiota contaminante dos alimentos para conservar o produto durante as fases de estocagem e de comercialização e assegurar ao consumidor a aquisição de um produto saudável.

3.3 ANTIMICROBIANOS NATURAIS

A procura dos consumidores por alimentos mais saudáveis tem crescido e instigado às indústrias produtoras de alimentos a buscarem antimicrobianos naturais para serem utilizados em substituição aos sintéticos.

Existe uma grande quantidade de agentes com ação antimicrobiana presentes nos animais, nas plantas e nos micro-organismos, muitos deles envolvidos no seu mecanismo de defesa. Esses compostos podem funcionar como antimicrobianos nos alimentos, quando adicionados como parte dos ingredientes naturais ou mesmo como aditivos (Nielsen, 2000).

Os principais potenciais compostos antimicrobianos existentes em espécies vegetais são as especiarias, os óleos essenciais e seus fitos constituintes. Muitos são os estudos que têm apresentado as atividades antimicrobianas dos óleos essenciais, isso ocorre tanto em modelos de sistemas alimentares quanto na matriz alimentar (Burt, 2004; Cutrim *et al.*, 2019; Food Ingredients Brazil, 2010; Millezi *et al.*, 2016; Silva, 2011).

Os óleos essenciais são compostos obtidos a partir de plantas aromáticas e caracterizam-se como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso

molecular, geralmente odoríferas e líquidas (Morais, 2009). Os constituintes dos óleos essenciais podem variar entre terpenos, aldeídos, fenóis, ácidos orgânicos fixos, cetonas e ésteres distribuídos em diferentes concentrações sendo que, um desses compostos farmacologicamente ativo é majoritário (Food ingredients Brasil, 2010; Krysten, 2016; Wolffenbüttel, 2011).

São encontrados em várias partes das plantas aromáticas como: folhas, frutos, flores, gomos, sementes, ramos, cascas, raízes ou caules. Estas matérias-primas são extraídas por métodos de destilação a vapor ou fluidos supercríticos, que permitem dentre outras coisas a otimização da taxa de extração, maior solubilidade e extração de vários componentes isoladamente (Food ingredients brasil, 2010).

3.4 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

De acordo com Azwanida (2015), os extratos são preparações concentradas, que possuem consistências diversas, obtidas de matérias-primas vegetais secas ou frescas e preparadas por processos que envolvem a utilização de solventes, a fim de separar os compostos vegetais solúveis existentes no material celular.

Antes mesmo de acontecer a extração, é realizada a preparação da matéria-prima vegetal a fim de proporcionar amostra segura e livre de contaminações, preservar as biomoléculas e homogeneizar o tamanho das partículas do material. Estas etapas são a lavagem, secagem e moagem. A moagem tem por finalidade diminuir as partículas das amostras, que por consequência, aumentam a área de contato do soluto com o solvente, o que beneficia a eficiência e a cinética da extração (Azwanida, 2015; Sasidharan *et al.*, 2011). Os solventes mais utilizados nos processos de extração são água, álcool, metanol, glicerina, propilenoglicol ou misturas desses. A escolha do solvente depende bastante da polaridade da amostra, uma vez que o solvente com polaridade semelhante ao soluto proporcionará uma melhor dissolução (Altemimi *et al.*, 2017; Azwanida, 2015; Sasidharan *et al.*, 2011).

3.5 ALHO ROXO

O alho é mundialmente conhecido na culinária, e também na medicina alternativa; é utilizado como tempero, conservas caseiras, chás, pomadas caseiras, entre outros. O alho é da família liliácea, planta assexuada, herbácea anual que necessita de clima frio para seu crescimento adequado que teve sua origem definida na Ásia. Esse vegetal é composto por um

bulbo, conhecido popularmente como “cabeça” e é composto por 10 a 12 bulbilhos ou popularmente conhecidos como “dentes” envoltos por uma casca que pode ser branca, rosa ou roxa (Bontempo, 2007).

Seu odor característico e marcante se deve pela presença da alicina (óleo volátil sulfuroso). Quando amassado ou triturado, as células são quebradas liberando o cheiro característico do alho (Oliveira, 2007). Os componentes sulfurados são liberados quando o alho é amassado, por isso há orientações do consumo logo após o preparo, pois as concentrações dos fitoquímicos sulfurados em questão diminuem. O alho contém compostos químicos complexos, sendo que muitos ainda não foram identificados (Marchiori, 2008). Aproximadamente 33 compostos organossulfurados já foram identificados no alho; em cada grama de alho fresco pode ser encontrado uma quantidade entre 11 a 35 mg destes compostos (Fenwick; Hanley 1985; Omar; Al-Wabel, 2010) No entanto, o teor destes compostos pode variar muito com relação a alguns fatores, como por exemplo, a composição do solo de plantio, sua variedade, seu tempo de maturação e dentre outros que pode ir além, quando na sua cadeia produtiva (Holub *et al.*, 2002).

Os sulfóxidos de cisteína fazem parte dos compostos organossulfurados encontrados na forma intacta dos alhos frescos, eles são solúveis em água e insolúveis na maior parte dos solventes orgânicos, se apresentam na cor branca, são inodoros quando sólidos. (Holub *et al.*, 2002). Outro composto que faz parte dos organossulfurados é a *y*-glutamilcisteína formada principalmente pela *y*-glutamil-S-trans-1-propenilcisteína e em menor quantidade a *y*-glutamil-S-alilcisteína e a *y*-glutamil-S-metilcisteína (Lanzotti, 2006; Holub *et al.*, 2002).

3.6 ALICINA

O alho quando em situação intacta possui um aminoácido inodoro, a aliina, que é transformado enzimaticamente, pela enzima alinase, em alicina. Essa transformação ocorre quando o alho é esmagado ou triturado (Alexandre *et al.*, 2008).

O bulbo do alho além de ser rico em alicina que confere ação antiviral, antifúngica e antibiótica, tem também, considerável teor de selênio atuando como antioxidante (Leonêz, 2008). Outro ponto que vale destacar é que a alicina é altamente sensível a altas temperaturas e condições de pH alto (Nazari *et al.*, 2019).

A alicina quando exposta ao ar é convertida em dialil dissulfetos, que possui característica física de um líquido volátil. Entre os metabólitos secundários presentes na

planta, ela tem lugar de destaque devido a suas várias propriedades, tais quais, atividades antimicrobiana, antitrombótica, hipolipidêmica e anticancerígena (Miron *et al.*, 2004).

4 METODOLOGIA

4.1 MATÉRIA-PRIMA E LOCAL DO EXPERIMENTO

Para execução do experimento os alhos foram adquiridos no comércio local da cidade de Belém – PB, os demais insumos foram disponibilizados pelo Laboratório de Tecnologia da Panificação – LTP. A produção dos pães de forma foi desenvolvida no LTP, do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCHSA/UFPB), Campus III, Bananeiras - PB. A obtenção do extrato, as análises físicas e análises microbiológicas foram realizadas nos Laboratórios de Análises Físico-Químicas de Alimentos e Laboratório de Microbiologia de Alimentos, respectivamente, ambos no CCHSA.

4.2 PRODUÇÃO DOS PÃES

A produção dos pães seguiu a ordem apresentada na (Figura 1) e foram utilizados os ingredientes descritos na (Tabela 1)

Tabela 1. Ingredientes da produção dos pães

INGREDIENTES	QUANTIDADE	%
Farinha de trigo	2,100 g	100
Água	950,0 g	45,24
Gelo	430,0 g	20,48
Açúcar	63,0 g	3
Fermento biológico	42,0 g	2,5
Sal	35,0 g	1,52
Óleo vegetal	12,0 mL	0,52

Fonte: autoria própria

Figura 1. Fluxograma da produção dos pães de forma



Fonte: autoria própria

- Pesagem da matéria-prima: todos os ingredientes foram pesados em balança semianalítica; esse processo garantiu a uniformidade do produto.
- Mistura (masseira): inicialmente foram colocados os ingredientes secos na masseira, exceto o sal. Com a masseira na velocidade 1 fez-se a primeira mistura, em seguida foi adicionado, aos poucos, a água com o gelo. Quando a massa ganhou homogeneidade, foi adicionado o sal e o óleo, e a masseira foi ajustada para o nível 2. Quando a massa ganhou textura lisa e atingiu o ponto de véu (elasticidade), encerrou-se essa etapa de mistura por meio do desligamento da masseira.
- Pesagem da massa: a massa retirada da masseira foi pesada e dividida em porções iguais de 830 g.
- Modelagem: a massa foi modelada em formas previamente untadas com margarina e farinha de trigo específicas para pão de forma.
- Descanso da massa: a massa foi levada para o armário de fermentação onde ficou em descanso por 1 hora até que houvesse a fermentação, fazendo com que dobrasse de tamanho.
- Pré-aquecimento do forno: o forno foi pré-aquecido a 180 °C (forno turbo a gás).

- Assamento: a massa foi levada ao forno por aproximadamente 40 minutos.
- Resfriamento: após a cocção, os pães foram levados para armários apropriados para que eles resfriassem em temperatura ambiente.

4.3 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E DO EXTRATO VEGETAL

No Laboratório de Análises Físico-Químicas de Alimentos, o processo de obtenção do extrato seguiu a metodologia utilizada por Aguiar (2021), onde os bulbos de alho passaram pelo processamento mínimo, onde foram descascados e cortados em pequenos pedaços (Figura 2).

Figura 2. (a) bulbo de alhos descascado; (b) alho picado



Fonte: autoria própria

Após o processamento mínimo, os pedaços de alhos foram transferidos para um Erlenmeyer e embebidos em hexano por três dias na proporção 1:1 (p/v). O Erlenmeyer foi vedado com película de parafina para evitar a perda do solvente por volatilização, e o recipiente também foi revestido com folha de alumínio afim de evitar a entrada de luz e uma possível oxidação. Neste estudo foram utilizados 627,30 g de alhos e 627,30 mL de hexano P.A. Após o terceiro dia o alho foi separado do hexano por meio do processo de filtração, utilizando funil e papel de filtro (Figura 3).

Figura 3. Separação do bulbo dos alhos do hexano



Fonte: autoria própria

A mistura (hexano com a fração oleosa) foi levada para o evaporador rotativo (Figura 4), com a finalidade de fazer a separação da fração oleosa do hexano, esse processo de evaporação ocorreu em temperatura de 60 °C por 20 minutos. Após o processo, o extrato oleoso foi acondicionado em frasco de vidro âmbar vedado, conservando-o contra fatores externos do meio e sob temperatura de refrigeração 4 °C.

Figura 4. Evaporador rotativo fazendo a evaporação do hexano

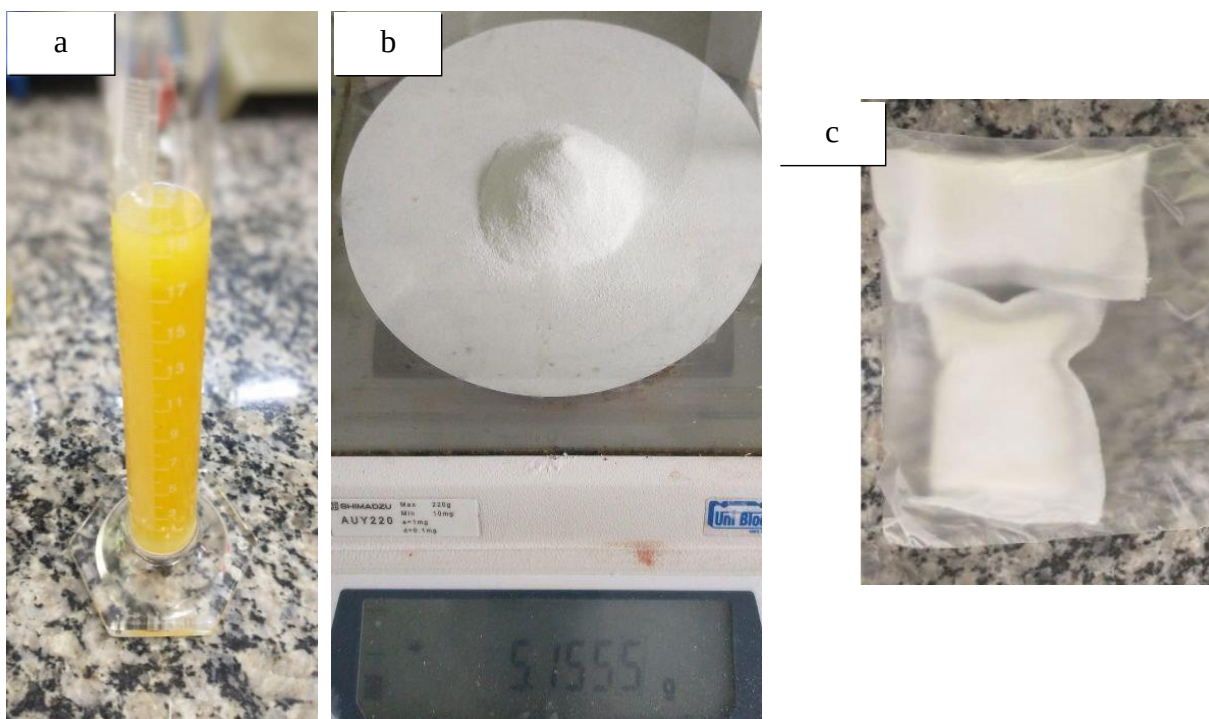


Fonte: autoria própria

4.4 PREPARO DO SACHÊ

O extrato oleoso foi incorporado em polímero de alta absorção (acetato de celulose), nas concentrações de 5 e 10% (v/p), em relação ao peso da matriz polimérica. Paralelamente, foi preparado um sachê-controle, sem adição de antimicrobiano (0%). A mistura, polímero e extrato oleoso, foi armazenada em tubo de ensaio hermeticamente fechado e mantido a 25 °C, por 2 horas. Após a incorporação, o material foi selado em um tecido-não-tecido (TNT), nas dimensões 7 x 9 cm, o que permitiu a volatilização do composto antimicrobiano, quando fixado no interior das embalagens. Na Figura 5 é possível observar o extrato oleoso, o acetato de celulose e o sachê já contendo a fração oleosa mais polímero.

Figura 5. (a) extrato oleoso; (b) acetato de celulose; (c) sachê.



Fonte: autoria própria

4.5 TRATAMENTOS UTILIZADOS NO PÃO DE FORMA

Os pães de formas foram fatiados, pesados e embalados em embalagens plásticas de polietileno de alta densidade; cada embalagem continha aproximadamente 300 g de pão (Figura 6). Dentro das embalagens foi adicionado os sachês do extrato oleoso nas concentrações de 5 e 10%, também foi adicionado um sachê-controle contendo apenas o

polímero (acetado de celulose) sem adição de extrato. O experimento foi montado em triplicata, e esses pães foram armazenados à temperatura ambiente 26,5 °C durante seis dias.

Figura 6. Pão de forma pronto para o experimento



Fonte: autoria própria

4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Nos pães de forma foram pesquisados os micro-organismos *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e bolores e leveduras, atendendo aos requisitos da RDC Nº 724, de 1 de julho de 2022, ANVISA (Brasil, 2022) e a Instrução Normativa nº 161/2022. As análises foram realizadas de acordo com a metodologia da American Public Health Association – APHA (2015).

4.6.1 Atividade antifúngica *in vitro* do extrato oleoso

A avaliação da atividade antifúngica do extrato oleoso *in vitro* foi realizada pelo método de difusão em disco para o fungo *Penicillium* spp. por ser um dos micro-organismos que mais deterioram produtos de panificação.

Para isso foi realizado um ensaio em placa de Petri pelo método de superfície e em triplicata, com o extrato oleoso nas concentrações de 5 e 10%.

Inicialmente foi proporcionado o crescimento do fungo do gênero *Penicillium* spp. em placas de Petri; após isso e com o auxílio de um *swab* o fungo foi transferido para um tubo de ensaio contendo água destilada estéril e agitado. O tamanho do inóculo padrão UFC/mL foi medido em câmara de Neubauer, e as médias dos quadrantes foi colocada na Equação 2.

$$N^{\circ} \text{ de esporos} = \frac{n^{\circ} \text{ total de esporo} \times \text{fator de diluente} \times 10.000}{n^{\circ} \text{ do quadrante}} \quad \text{Eq. 2}$$

O resultado obtido foi 10^7 UFC/mL, e para chegar à concentração de esporos desejada foi necessário a diluição até 10^3 UFC/mL. Com o auxílio de um *swab*, a placa que já contia o Agar batata dextrose (BDA) foi inteiramente estriada, e em seguida foi colocado no centro da placa um mini disco de papel de filtro para comportar as concentrações do extrato. Para a concentração de 5% de extrato foram utilizados 100 µl, e para a concentração a 10% foram utilizados 200 µl. As placas foram invertidas e incubadas por 5 dias a 25 °C. Esse procedimento avalia a atividade de uma substância sobre um micro-organismo e relaciona o tamanho do halo de inibição do crescimento microbiano à substância ensaiada (Pinto; Kaneko; Ohara, 2003).

4.7 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas descritas abaixo descritas foram realizadas em triplicata, pelos métodos oficiais da American Association of Cereal Chemists - AACC (2000).

4.7.1 Análise de pH

O pH das amostras foi determinado em potenciômetro digital (Gehaka, PG2000) previamente calibrado, usando soluções tampões comerciais pH 4,00 e 7,00, segundo a metodologia da AACC (2000). para produtos assados, sendo analisado o pH nas fatias de pães pós-cocção nos tempos 0, 6 dias.

4.7.2 Determinação de atividade de água (aw)

A a_w foi obtida primeiro a umidade (método 44-10) por secagem em estufa sem circulação de ar a 105°C por 24 horas, os valores foram obtidos pela Equação 2, e dividido por 100 para chegarmos a a_w .

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{\text{Peso da amostra} - \text{Peso da amostra seca} \times 100}{\text{Peso inicial}} \quad (\text{Equação 1}) \quad \text{Eq. 2}$$

4.8 ANALISE FISICA

A análise física descrita abaixo foi realizada em triplicata, e seguiu a metodologia descrita por (Chen *et al.*, 2019).

4.8.1 Teste de compressão

A análise de textura dos pães foi realizada em triplicata nas três formulações utilizando o método de avaliação Texture Profile Analysis (TPA) em texturômetro TA. XT Express Enhanced de 10 kg, medindo a dureza (g). A sonda P/1,5l com cilindro de alumínio com 2 mm de diâmetro foi utilizada para aplicar uma compressão de 20 mm nas amostras, considerando a razão das medidas de altura da amostra antes e depois da compressão (Chen *et al.*, 2019).

Os pães submetidos ao teste de compressão foram inicialmente fatiados à mão, em seguida foi realizada a calibragem da probe para reconhecer a textura da superfície do produto analisado. Posteriormente foram posicionadas duas fatias de pão no centro da base de teste e realizou-se o ensaio. Para cada tratamento foi realizado o teste em triplicata

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as análises foram realizadas em triplicata, e no tempo zero foi analisado apenas os pães do tratamento-controle contendo o sachê adicionado apenas de polímero; já no tempo de 6 dias todos os tratamentos foram analisados. As análises foram feitas desta forma, visto que no tempo zero os sachês adicionados de extrato oleoso não teria ficado tempo suficiente em contato com os pães, para que proporcionasse alguma modificação.

5.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Na Tabela 2 estão expressos os resultados das análises microbiológicas.

Tabela 2. Resultado das análises microbiológicas

Microrganismos	Controle	Controle	5%	10%	LPL
pesquisados	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	
	0	6	6	6	
<i>Salmonella</i> spp. (25/g)					Ausente em 25 g
10 ⁻¹	Ausente	ausente	ausente	ausente	
10 ⁻²	Ausente	ausente	ausente	ausente	
10 ⁻³	Ausente	ausente	ausente	ausente	
<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)					10 ³
10 ⁻¹	9x10 ¹				
10 ⁻²	<10	<10	<10	<10	
10 ⁻³	9x10 ¹				
<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)					10 ²
10 ⁻¹	<10	<10	<10	<10	
10 ⁻²	<10	<10	<10	<10	
10 ⁻³	<10	<10	<10	<10	
Bolores e leveduras (UFC/g)					10 ⁴
10 ⁻¹	<10				
10 ⁻²	<10	1,6x10 ⁵	3,8x10 ⁵	1,4x10 ⁵	
10 ⁻³	<10				

Fonte: autoria própria. Nota: (1) Instrução Normativa n° 724, de 01 de julho de 2022. LPL: limite permitido pela legislação

Os resultados das análises microbiológicas, com exceção da análise de bolores e leveduras no tempo seis, apresentaram-se dentro dos padrões preconizados pelas legislações vigentes, demonstrando a eficácia do processo produtivo na produção dos pães. No entanto, quanto às análises do tempo seis, em função do crescimento visível de fungos (Figura 7), todas as amostras apresentaram um grande aumento na quantidade de bolores e leveduras, nos levando a observar a baixa eficiência do extrato oleoso, quando incorporado em sachê nas diferentes concentrações e no tempo mínimo de ação de seis dias. Lua (2019) afirma que pão à temperatura ambiente e sem conservante geralmente dura de 3 a 4 dias, entretanto, a proximidade dos resultados do experimento com a literatura, significa dizer que o sachê não conservou a vida útil do pão de forma muito além do que a vida de prateleira de um pão sem conservante.

Figura7. Pães do experimento acometidos por fungos do gênero *Penicillium*



Fonte: autoria própria

Alguns questionamentos podem ser levantados quanto a esse resultado, a principal hipótese seria de que, a quantidade de composto volátil liberado pelo sachê não foi suficiente para preencher todo o volume da embalagem plástica e, portanto, para atingir a concentração mínima para inibição em toda embalagem. Além disso, polímeros de diferentes constituições

retêm óleos em diferentes graus, sendo necessário concentrações ainda maiores capazes de promover a saturação e, consequente, liberação do composto. Resultado parecido foi observado por Lopes (2007) em seu trabalho sobre o desenvolvimento de embalagens ativas e sua avaliação na conservação de produtos de panificação, ao utilizar aldeído cinâmico incorporado em sachê, tendo obtido um resultado de inibição sobre os fungos apenas na área lateral da placa de Petri que estava próxima ao sachê. Na área distante do sachê houve crescimento de fungos, provando a baixa capacidade da matriz polimérica de liberar o composto ativo.

Como afirmam Cornea *et al.*, (2011), o processo de contaminação fúngica de pães acontece logo após o processamento, através da deposição de esporos provenientes do ar, manipuladores, superfície de equipamentos de fatiamento, resfriamento e embalagem. Em razão do seu crescimento predominantemente micelial, os fungos colonizam rapidamente o alimento gerando metabólitos secundários, que além da aparência indesejável, os fungos também são responsáveis por alterações nas características sensoriais dos produtos, como sabor e odor frutado, diminuindo muito a sua vida útil e impossibilitando a sua comercialização (Quattrini *et al.*, 2019).

Cada micro-organismo modifica de forma específica o produto acometido, o que facilita a sua identificação. Os fungos produzem esporângios coloridos que são visíveis a olho nu (Silveira, 2019). O gênero *Penicillium* que é responsável por 90 a 100% da deterioração de pães, ocasiona um mofo predominantemente cinza esverdeado, de sua estrutura morfológica (Figura 8) deriva o nome do gênero, do latim *Penicillus*, ou pincel, em referência aos conidióforos ramificados, ausentes por exemplo no gênero *Aspergillus*. A espécie mais comum em pães de trigo é o *Penicillium commune* (Figura 9) (Carlile, Watkinson; Gooday, 2001).

Figura 8. Estrutura morfológica do fungo *Penicillium*.

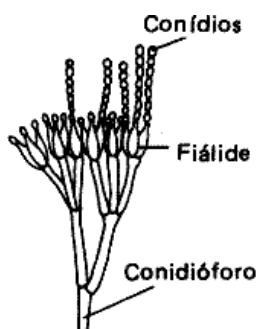


Figura 9. Pão contaminado com *Penicillium commune*.



5.1.1 Atividade antifúngica do extrato oleoso

Os resultados expressos pelo halo de inibição do crescimento de *Penicillium* spp. promovidos pelo uso do extrato oleoso e polímero estão apresentados na Tabela 2. A literatura não dispõe de uma medida limite de halo (mm). Dessa forma, convencionou-se que a presença ou ausência de halo de inibição representam resistência ou sensibilidade à substância testada (Nweze; Mukherjee; Ghannoum, 2010). Já na visão de Arora e Kaur (1999) relatam que o tamanho do halo de inibição indica a maior ou menor suscetibilidade dos micro-organismos em relação às substâncias inibidoras, classificou os halos de inibição com base no tamanho do diâmetro (incluindo o diâmetro do disco de papel filtro), sendo os valores menores que 7 mm foram considerados não-ativos contra os micro-organismos testados, e os halos de inibição de 12 mm de diâmetro ou maiores foram considerados como os de melhor efeito inibitório provocado pelo óleo essencial testado.

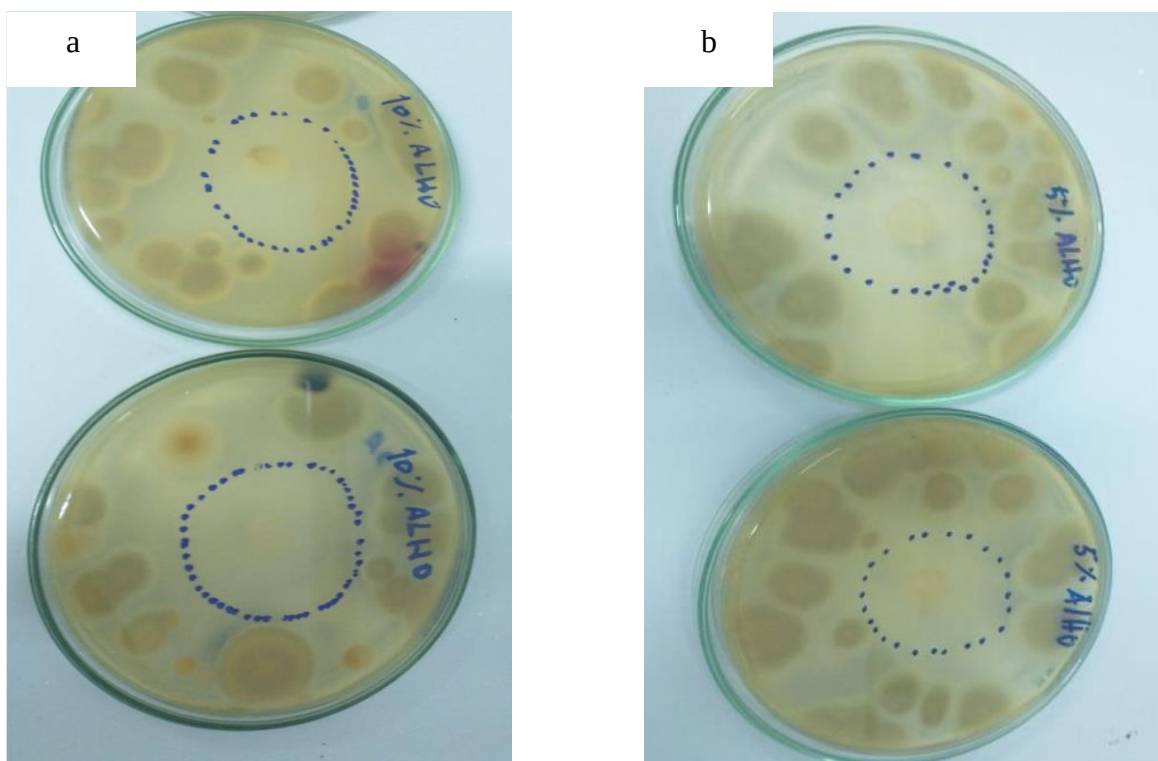
Tabela 3. Diâmetro (mm) do halo de inibição do crescimento de *Penicillium* spp.

Composto antifúngico	Media do diâmetro (mm) halo de inibição
Extrato (5%)	38,5
Extrato (10%)	36

Fonte: autoria própria

Os resultados da Tabela 3 sugerem que o *Penicillium* spp. é sensível aos efeitos do extrato oleoso de alho nas concentrações testadas, entretanto os resultados da análise demonstram que o aumento na concentração do composto antifúngico não interferiu no aumento do halo de inibição (Figura 10).

Figura 10. Halo de inibição de crescimento de *Penicilliu* spp. (a) 10% de extrato – presença de halo de inibição dentro do pontilhado em azul; (b) 5% de extrato – presença de halo de inibição dentro do pontilhado em azul.



Fonte: autoria própria

O fungo *Pennicillium* spp. mostraram ser sensível ao extrato quando testado diretamente na placa. Comportamento parecido também foi observado por Brand et al. (2006) em seu trabalho sobre extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de cebola; o tratamento com extrato fresco de alho proporcionou uma significativa redução na incidência de *Penicillium* spp. controlando-o em 73,62%, e comprovando o seu potencial antifúngico.

A atividade antifúngica determinada pela técnica de difusão em disco é bastante aceitável para medir quantitativamente a atividade *in vitro* de um agente antimicrobiano contra um determinado isolado bacteriano (Santurio, 2011). Almeida (2017) afirma em seu trabalho sobre desenvolvimento de embalagem ativa antimicrobiana para pães de forma, que os resultados obtidos com este método são somente qualitativos e nem sempre reproduzíveis. No entanto, associados aos resultados de técnicas complementares, como o método de volatilização em disco (MID), é possível se determinar o potencial antimicrobiano de muitos compostos e/ou a resistência de muitas classes de micro-organismos e apesar das limitações,

esta continua a ser a técnica mais comum utilizada para a avaliação da capacidade antimicrobiana de óleos (Kalemba; Kunicka, 2003).

5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

5.2.1 pH e atividade de água (aw)

Os valores de pH dos pães de forma (Tabela 4) tiveram pouca ou nenhuma variação durante o armazenamento. Em condições de alta atividade de água, os fungos competem com as bactérias como contaminantes de alimentos. Nesses casos, o pH desempenha um papel decisivo. As bactérias se desenvolvem melhor em condição de pH neutro. À medida que o pH é reduzido a cerca de 5, o crescimento de bactérias se torna progressivamente menos provável, ao passo que a maioria dos fungos é pouco afetado pelo pH ao longo de um amplo intervalo, geralmente de 3 a 8. O pH 5 é considerado ótimo para o desenvolvimento de fungos. Nesses casos, o efeito de outros fatores que limitam o crescimento desses micro-organismos deve tornar-se mais forte e sobrepor o efeito do pH (Pitt; Hocking, 1999). No presente trabalho, o pH manteve-se em torno de 6,6, condição ótima para o crescimento fúngico.

No tratamento-controle os pães apresentaram aw média de 0,69 no tempo 0 e após 6 dias de estocagem o valor aumentou para 0,78. Nos tratamentos com 5 e 10% os valores iniciais do tempo seis foram 0,77 e 0,85%, respectivamente (Tabela 4). O pão de forma é um produto de alta atividade de água, possui bastante água livre disponível para o crescimento microbiano e para as reações químicas de deterioração. Os valores apresentados neste trabalho estão próximos aos valores encontrados por Gragnani (2010), que encontrou valores superiores a 90,0% para pães de forma.

Tabela 4. Resultado das análises de atividade de água e pH nos tempos zero e seis dias

Variáveis	Tempo de estocagem (dias)	Amostras		
		Controle	5%	10%
pH	0	7,00	NA	
	6	6,20	6,8	7
Atividade de água	0	0,69	NA	
	6	0,78	0,77	0,85

Fonte: autoria própria. Nota: NA: não avaliado

Jay (2005) afirma que quanto menor a atividade de água do alimento menor será o crescimento da maioria dos micro-organismos, principalmente de bactérias. Indo de encontro com essa ideia e com exceção da formulação a 10% todas as outras concentrações mantiveram a atividade de água abaixo de 0,80 e mesmo com esse fator as formulações em destaque apresentaram o crescimento de fungos, nos levando a acreditar que os fungos são capazes de crescer em concentrações mais baixa de atividade de água.

5.3 ANÁLISE FÍSICA

5.3.1 Teste de compressão - avaliação da textura dos pães

A textura é uma característica física que advém dos elementos estruturais dos alimentos e pode ser avaliada por meio de análise sensorial ou instrumental. No caso do pão de forma, a textura apresenta-se como um importante indicador de frescor e qualidade para o consumidor, sendo um fator imprescindível para a aceitabilidade do produto no mercado (Lassoued *et al.*, 2008).

Os valores expressos na Tabela 5, são as medias resultante da firmeza dos pães, expressa pela força máxima aplicada.

No tempo zero apenas no tratamento-controle foi feito o teste, visto que não havia tempo suficiente de ação do sachê antimicrobiano nas formulações a 5 e 10% que resultasse em alteração nos dados de compressão. Já no tempo seis, todos os tratamentos foram analisados e observou-se um valor de pico positivo (força de compressão) já bastante alto para todos os tratamentos, e em comparativo com o tempo zero o tratamento-controle apresentou um aumento brusco no pico positivo e uma queda considerável no pico negativo, significando o aumento da dureza no miolo do pão com o passar dos dias, mostrando que há concordância com a literatura (Bonet *et al.*, 2006; Gil *et al.*, 1999; Katina *et al.*, 2006; Sahlström; Brathen, 1997), onde se afirmam que devido às transformações ocorridas nos ingredientes e, principalmente, à retrogradação do amido, ocorre redução na maciez do miolo dos pães e aumento na força de compressão com o decorrer da vida de prateleira.

Tabela 5. Avaliação de textura dos pães

Média	Tempo de estocagem (dias)	Amostras		
		Controle	5%	10%
Pico positivo		269,369		

Pico negativo	0	-4,637	NA	NA
Pico positivo	6	852,128	818,659	581,627
Pico negativo		-2,521	-7,531	-1,763

Fonte: autoria própria. Nota: NA: não avaliado

Em sua pesquisa, Vulicevic *et al.*, (2003) apontam que a retrogradação do amido ocorre durante o resfriamento do pão, o que contribui para a estabilidade da estrutura final do produto, essa interação entre proteína e amido é atribuída à formação de ligações cruzadas entre o glúten e o amido gelatinizado e resulta em aumento da firmeza de miolo. Também na perspectiva de Stauffer (2000), o envelhecimento do pão não está relacionado com a perda de umidade da massa, um pão analisado após cinco dias armazenado em condições apropriadas possuiria a mesma umidade que um pão “fresco” embora apresente ao paladar a sensação de estar mais seco. O endurecimento estaria vinculado à retrogradação do amido e ao comportamento das proteínas e pentosanas.

6 CONCLUSÃO

O sachê a base de extrato oleoso extraído dos bulbos de alho roxo, nas concentrações de 5 e 10% adicionado à matriz polimérica (acetato de celulose) não apresentou atividade antimicrobiana para o pão de forma, visto que, no sexto dia já era possível notar a olho nu o aparecimento de fungos filamentosos. Com esse resultado, sugere-se que adequações sejam realizadas no sachê incorporado com o extrato oleoso, pois o mesmo é rico em compostos com comprovada ação antimicrobiana. E quando testado *in vitro* nas mesmas concentrações do sachê, apresentou atividade antifúngica para o mesmo fungo que se desenvolveu no pão durante o experimento, o *Penicillium* spp.

No presente estudo, a possível falta de sinergia entre a embalagem, sachê e as condições de armazenamento, resultou no prévio crescimento fúngico e não apresentando ação conservante para o pão de forma.

REFERÊNCIAS

- ABIMAPI. **Anuário** 2020 -Um mercado de 36 bilhões de reais. [S.l.]: BB editora, 2020.
- Aguiar, R. L. S. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de óleo essencial de alho sobre bactérias patogênicas**. 2021. Disponível em: https://www.cienfianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/Artigos_cientificos/1-Atividade-antibacteriana-alho.pdf Acesso em Abr. 2024
- ALEXANDRE, *et al.* Potenciais interações entre fármacos e produtos à base de valeriana ou alho. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, p. 455-463, 2008.
- ALMEIDA, P. P. **Desenvolvimento de embalagens ativa antimicrobiana para pães de forma**. (Dissertação de doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Laurindo -SC, 2017.
- ALTEMIMI, A. *et al.* Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. **Plants**, v.6, n.42, p. 1-23, 2017.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.3, p.113-126, 2002.
- ARORA, D. S.; KAUR, J. Antimicrobial activity of spices. **International Journal of Antimicrobial Agents**. 12: 257- 262. 1999.
- AZWANIDA, N.N. A. Review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. **Medicinal and Aromatic Plants**, v. 4, n. 3, p. 1-6, 2015.
- BATTOCHIO, J. R. *et al.* Perfil Sensorial de Pão de forma integral. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n 2, p. 428-433, 2006.
- BONET, A. *et al.* Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: A study from macroscopic to molecular level. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 2, p. 408-415, 2006.
- BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios a saúde**. Edição 1. São Paulo. Editora: Alaúde, 2007.
- BRAGA, L. R.; PERES, L. Novas tendências em embalagens para alimentos: Revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 69- 84, 2010.
- BRAND, S. C. **Extratos** vegetais no controle de patógenos em sementes de cebola. **XV Congresso de iniciação científica**, Roraima, 2006. VIII Encontro de pós graduação. Disponível em: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/31235767/CA_00542-libre.pdf?1392277280=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DEXTRATOS_VEGETAIS_ Acesso em: abr. 2024.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 90, 18 out. 2000. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de

pão. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, out. 2000. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 15 fev. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Resolução RDC nº 734 de 1 de julho de 2022. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Seção1, p.45-53, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 90, 18 out. 2000. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de pão. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, out. 2000. Disponível em. Acesso em: 15 dez. 2023.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal**, 2004.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C.; GOODAY, G. W. **The fungi**. London, UK: Academic Press, 2001.

CHEN, Y.; ZHAO, L.; HE, T.; OU, Z.; HU, Z.; WANG, K. Effects of mango peel powder on starch digestion and quality characteristics of bread. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.140, p. 647-652, 2019.

CORNEA, C.P.*et al.* Incidence of fungal contamination in a *Romanian bakery*: A molecular approach. Rom. **Biotechnogyl. Letters**. v. 16, p. 5863–5871, 2011.

CUTLER, R. R.; WILSON, P. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **British journal of biomedical Science**, v. 61, n.2, p.71-4, 2004

CUTRIM, E. S. M. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de Gengibre (*Zingiber officinale*) e Alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 1, p. 60- 81, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/B7KzvTGQsXVRkVztvVkZg3M/?lang=pt> Acesso em: 19 dez. 2023.

DOMINGO, D. LOPEZ, M. Plants with antimicrobial action. **Revista Espanhola de Quimioterapia**. v. 16(4): p. 385-93, 2004.

DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. **APHA – American public health association**, 4th, 2001. p. 676, 2001.

FARIA, J. D. **Influência da farinha de trigo em pães industrializados**. In:Reunião da Comissão Centro-Sul Brasileira de Pesquisa de Trigo, 18. Reunião Brasileira de Triticale, 9., Seminário Técnico do Trigo, 4., Guarapuava.Palestras, resumos e atas...Guarapuava:Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2003.

Federation of Bakers. History of Bread – 20th century. Disponível em: <https://www.fob.uk.com/about-the-bread-industry/history-of-bread-antiquity/history-bread-20th-century/> Acesso em: 21 fev. 2024.

FENWICK, G. R. HANLEY, A. B. The genus *allium*. Part 2. **Critical review in food science and nutrition**, v. 22, p. 273-377, 1985.

FODD INGREDIENTS BRAZIL. **Agentes antimicrobianos químicos e naturais**, 2010. Disponível em: [https://revista-fi.com.br/upload arquivos/201606/2016060739062001465320470.pdf](https://revista-fi.com.br/upload/arquivos/201606/2016060739062001465320470.pdf) Acesso em: 19 dez. 2020.

Fратиanni, F. *et al.* Phenolic constituents, antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of different endemic Italian varieties of garlic (*Allium sativum* L.). **Journal of Functional Food**, 21, pp. 240-248, 2016.

GEREZ, C. L., TORINO, M. I., ROLLÁN, G., & VALDEZ, G. F. Prevention of bread mold spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. **Food control Journal**, v. 20, p.144-148, 2009.

GIL, M. J. *et al.* Keeping qualities of white pan bread upon storage: effect of selected enzymes on bread firmness and elasticity. **Zeitschrift Lebensmittel Untersuchung Forschung**, Berlin, v. 208, n. 5-6, p. 394-399, 1999.

GRAGNANI, M. A. L. **Produção e avaliação de pão de forma com tritcale e enzima transglutaminase microbiana**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimento) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control.**, [S.l.], v. 46, p. 412- 429, 2014.

HOLUB, B. J. *et al.* Organosulfur compounds from garlic. In: Shi, J., Mazza, G., Maguer, M. L. (ed) **Functional Foods**. Washington, v. 2, p.213-79, 2002.

ILLEZI, A.F.*et al.* Anti-biofilm and antibacterial effect of essential oils and their major compounds. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v.19, n.3, p.624- 631, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4ª ed. (1ª Edição digital), 1020 p, 2008.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 712 p. 2005.

JENSEN, S. *et al.* Chemical changes in wheat pan bread during storage and how it affects the sensory perception of aroma, flavour, and taste. **Journal of Cereal Science**, v. 53, p. 259-268, 2011.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. **Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils**. Current Medicinal Chemistry, v. 10, p. 813-829, 2003.

KATINA, K. et al. Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fiber wheat bread. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 5, p. 479-491, 2006.

KERRY, J. P.; O'GRADY, M. N.; HOGAN, S. A. **Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review.** *Meat Science*, v. 1, n. 74, p. 113-130, 2006.

KRUIJF, N.; VAN BEEST, M.; RIJK, R.; SIPILÄINEN-MALM, T.; LOSADAS, P.P.; DE MEULENAER, B. Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, p. 144-162, 2002.

KRYSHEN, A. **Avaliação do potencial antimicrobiano de óleos essenciais e nisina.** 63f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2016.

LANZOTTI, V. The analysis of onion and garlic. **Journal of chromatogr.** V. 1112,1 p. 3-22, 2006.

LASSOUED, N; DELARUE, J; LAUNAY, B; MICHON, C. Baked product texture: correlations between instrumental and sensory characterization using Flash Profile. **Journal of Cereal Science**, London, v.48, n.1, p.133-143, 2008.

LEONÊZ, A. C. **Alho: Alimento e saúde.** Curso de Especialização em Gastronomia e Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LOPES, F. A. **Desenvolvimento de embalagens ativas e sua avaliação na conservação de produtos de panificação.** (Tese de dissertação) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/7729/1/texto%20completo.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2023.

LUA, M. **Por quanto tempo você pode guardar o pão?** (M. Lua, Ed.) minilua, 11 out. 2019. Disponível em: <<https://minilua.net/quanto-tempo-pode-guardar-pao/>>. Acesso em: 18 abr. 2024

MANTIS A. J. *et al.* The effect of garlic extract on food poisoning bacteria in culture media. I. *Staphylococcus aureus*. **Lebensm Wissenschaft Technol.** v.11, p. 26-8, 1978.

MARCHIORI, V. F. **Propriedades funcionais do alho** (*Allium sativum* L.) 2008.

MATAN, N. *et al.* Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107 p. 180-185, 2006.

MELO, N. R. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de filmes incorporados com lactato de sódio em salsichas embaladas a vácuo. In: **Anais do XXI CBCTA**, 2002.

MILLEZI, *et al.* Sensibilidade de bactérias patogênicas em alimentos a óleos essenciais de plantas medicinais e condimentares. **Higiene alimentar.**, p. 117-122, 2016.

Ministério da Saúde -MS **Agência Nacional de Vigilância Sanitária** -ANVISA. [s.l: s.n.].Disponívelem:<https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_711_2022_.pdf/f9212b727d2d451fb21b7a7fb9b94a81#:~:text=Ag%C3%Aancia>

%20Nacional%20de%20Vigil%C3%A2ncia%20Sanit%C3%A1ria
%20%20E2%80%93%20ANVISA>. Acesso em: 15 dez. 2023.

MIRON, T. *et al.* Allicin: preparation and applications. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v.331, n. 2, p.364-369, ago. 2004.

MORAIS, L. A. S. **Influência dos fatores abióticos na composição dos óleos essenciais.** Horticultura brasileira., V. 27, n. 2, ago. 2009.

MURIEL-GALET, V. *et al.* Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components. **Journal of Food Engineering**, v. 149, p. 9-16, 2015.

NASCIMENTO, A. C. *et al.* Pão do norte de Portugal: um estudo interventivo com vista a reduzir o teor de sal no pão. **Alimentação e nutrição**, v.24, n. 5, p 28-30, 2019.

NAZARI, M. *et al.* Garlic essential oil nano phytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. **Journal of Colloid and Interface Science**. V. 30 (2), 2019.

NIELSEN, P. V.; RIONS, R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2-3, p. 219-229, 2000.

NWEZE, E. I; MUKHERJEE, P. K.; GHANNOUM, M. A. Agar-based disk diffusion assay for susceptibility testing of dermatophytes. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 48. n.10. p. 3750-3752. 2010.

OLIVEIRA, C. J.; ARAÚJO, T. L. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Cadernos de Pesquisa**., v. 18, n. especial, 2007.

OLIVEIRA, M.L.B. *et al.* O gênero Piper no Brasil: o estado da arte da pesquisa. **Biodiversidade**, v. 19, n. 3, p. 198, 2018.

OMAR, S. H., WABEL, A. L. NA. Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. **Saudi Pharm Journal**. v. 18 p. 51-8, 2010.

OUATTARA, B. *et al.* Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, p. 139-148, 2000.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos.** Correlatos e Cosméticos. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora. 325 p. 2003.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage.** Second edition. Aspen Publishers, 1999.

QUATTRINI, M. *et al.* Exploiting synergies of sourdough and antifungal organic acids to delay fungal spoilage of bread. **International Journal of Food Microbiology**, v. 302, p. 8–14, 2019.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, v. 62, p. 373-380, 2002.

R CORE TEAM. R. **A language and environment for statistical computing**. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. 2018.

RODRIGO F. *et al.* Potenciais interações entre fármacos e produtos à base de valeriana ou alho, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Florianópolis, vol.18, n.3, 2008.

SAHLSTRÖM, S.; BRATHEN, E. Effects of enzyme preparations for baking, mixing time and resting time on bread quality - and bread staling. **Food Chemistry**, London, v. 58, n. 1-2, p. 75-80, 1997.

SAMPAIO, A. S. *et al.* Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, vol.40, n.7, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/DZRWZJbvjVRmSxfMFfkzzjw/?lang=pt> .Acesso em: 19 dez. 2023.

SANTURIO, D. F. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos sobre *Escherichia coli* isoladas de suínos, aves e bovinos**. (Dissertação de mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, 2011.

SASIDHARAN, S. *et al.* Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2011.

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**. v. 6, p. 29-44, 1984.

SILVA, M. G. F. **Óleos essenciais e fitoconstituintes: citotoxicidade e potencial antibacteriano in vitro e em matriz alimentar de base láctea**. 64f.2011. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SILVEIRA, M. P. **Desempenho antifúngico de óleo s essenciais de canela, cravo e louro em bolores de pães de forma integrais**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Brasil: 2019.

SOFOS, J. N. *et al.* Naturally occurring antimicrobials in food. **Regul Toxicol Pharmacol**. v. 28, p. 71-2, 1998.

STAUFFER, C. E. Emulsifiers as antistaling agents. **Cereal foods world**, v. 45, n. 3, p. 106-110, 2000.

Tabela brasileira de composição de alimentos. Campinas: NEPA, UNICAMP, Brasil, 2011.

TAJKARIMI, M. M.; IBRAHIM, S. A.; CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food control journal**, v.21, p. 1199-1218, 2010.

VULICEVIC, I. R. *et al.* Quality and storage life of par-baked frozen breads. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 37, p. 205-213, 2003.

WOLFFENBÜTTTEL, A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: Abordagem técnica e científica**. São Paulo: Roca, 312 p., 2011.