

# Compostos fenólicos extraídos de fontes naturais aplicados como conservadores em massas de pizza

Phenolic compounds extracted from natural sources applied as conservatives of pizza doughs

Anelise Christ-Ribeiro<sup>1</sup>, Cristiana Costa Bretanha<sup>2</sup>, Gregory Giacobbo<sup>3</sup>, Michele Moraes de Souza<sup>4</sup> e Eliana Badiale-Furlong<sup>5</sup>

## RESUMO

A melhoria nas práticas de higiene e produção de alimentos é importante para a segurança alimentar, além da necessidade de aplicação de conservantes de tipos e níveis corretos. A pizza é um dos alimentos que sofre intensa manipulação durante o processamento, o que contribui para contaminação, perda de qualidade e um intervalo restrito de vida útil. Em vista disto, o objetivo do trabalho foi aplicar em pizzas compostos fenólicos extraídos do farelo de arroz fermentado pelo fungo *Rhizopus oryzae* e da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB-18 como conservantes. As soluções etanólicas de compostos fenólicos extraídos das matrizes borrifados nas pizzas estavam nas concentrações de 1,1 e 1,2mg/g por amostra, respectivamente, para o farelo de arroz fermentado e *S. platensis* LEB-18. Como controle, foi empregado solução de água e etanol nas mesmas proporções. Os extratos fenólicos do farelo de arroz fermentado e da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB-18 foram eficientes inibidores frente à multiplicação fúngica nas massas de pizza comparados ao conservante químico e o controle.

**Palavras-chaves:** Conservantes naturais. Conservantes comerciais. Fermentação. Cianobactéria . *Rhizopus oryzae*.

## ABSTRACT

The improvement in hygiene practices and food production is important for food security, as well as the need for applying appropriate types and levels of preservatives. Pizza is one of the foods that undergoes intense manipulation during its processing, a factor that contributes to its contamination, quality loss, and limited lifespan. In view of this, the aim of this study was to apply phenolic compounds extracted from fermented rice bran (using *Rhizopus oryzae* fungus) and from the *Spirulina* sp. LEB-18 cyanobacteria in order to test them as pizza dough preservatives. The ethanolic solutions of phenolic compounds sprayed on pizza were at concentrations of 1.1 and 1.2mg/g sample for fermented rice bran and *Spirulina* sp. LEB-18 respectively. As control, was used water solution and ethanol in the same proportions. The phenolic extracts of fermented rice bran and *Spirulina* sp. LEB-18 microalgae were more effective inhibitors against fungal multiplication in pizza doughs when compared to chemical preservative and control.

**Keywords:** Natural preservatives. Chemical preservatives. Fermentation. Microalgae. *Rhizopus oryzae*.

1 anelise.christ@hotmail.com - Universidade Federal do Rio Grande - FURG\*

2 crisbretanha@hotmail.com - Universidade Federal do Rio Grande - FURG

3 gregorygiacobbo@hotmail.com - Universidade Federal do Rio Grande - FURG

4 michele.moraesdesouza@gmail.com - Universidade Federal do Rio Grande - FURG\*

5 bafu@vetorial.net - Universidade Federal do Rio Grande - FURG



## 1. Introdução

Há, atualmente, diversos estudos voltados à busca de alimentos que ultrapassem a mera função de nutrir, ou seja, que apresentem outras atividades funcionais. Exemplos disso são aqueles relacionados a antioxidantes, substâncias que neutralizam os radicais livres, já que estes, por sua vez, alteram as membranas celulares causando lesão celular e inflamação, além de promoverem o crescimento anormal de células e vários tipos de câncer (FURLONG et. al., 2003, KRISHNASWAMY et al., 2012).

Os compostos fenólicos (substâncias aromáticas hidroxiladas que variam entre estruturas mono-cíclicas a polímeros, e que podem ser encontrados naturalmente em cereais, hortaliças, frutas, chás, ervas, chocolate, café e vinho) estão entre exemplos de alimentos que apresentam outras funcionalidades. Tais compostos exibem uma ampla variedade de propriedades fisiológicas, como efeito antialérgico, antimicrobiano, antioxidante, antitrombótico, cardioprotetor e vasodilatador (ARAUJO, 2011; VICHAPONG et al., 2010).

Decorrente de seu caráter redutor, o potencial funcional dos compostos fenólicos, como os flavonoides, vem norteando o interesse da comunidade científica no sentido de sua aplicação como conservadores naturais (BIERHALS et al., 2009; Wu et al., 2013). Tais interesses têm surgido especialmente em razão da associação do uso de conservadores químicos à ocorrência de alergia e à intolerância alimentar, além de que provocam mutações e geram alterações celulares, as quais podem levar ao desencadeamento de câncer, principalmente no fígado, nos rins, no intestino e no estômago. Ademais, outros estudos mostram que o sistema nervoso central também é afetado pelo uso contínuo destes aditivos alimentares (WARDLAW e SMITH, 2013).

Produtos de panificação sofrem variada manipulação durante o seu processamento. Isto, por si só, representa risco de danos à saúde do consumidor e, principalmente, de perda da qualidade da vida útil. Além dos efeitos da manipulação, a composição, o tipo de embalagem e as condições de estocagem podem colaborar para a rápida degradação do produto, o que torna necessário o emprego de altas concentrações de conservadores químicos (GIANNOU et al., 2003; HEBEDA e ZOBEL, 1996).

Para minimizar esses efeitos, o farelo de arroz fermentado e a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB-18 são matrizes que apresentam resultados promissores como fonte de compostos fenólicos com ação antioxidante, antifúngica, entre outros (OLIVEIRA et. al., 2007; SOUZA et. al., 2011 e CHRIST-RIBEIRO et. al., 2011, SCHMIDT et al., 2014).

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi extrair compostos fenólicos de farelo de arroz fermentado e da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB-18 e aplicar em pizzas para avaliar seu efeito antifúngico na massa, comparando-o com o conservador químico.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Matéria prima

O farelo de arroz integral fornecido por uma indústria da região sul, foi utilizado neste estudo como fonte de compostos fenólicos para ser aplicado como substrato na fermentação em estado sólido. A cianobactéria *Spirulina* sp. Leb-18 foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG.

Os discos de massas de pizza (área em média de 50cm<sup>2</sup>) pré-assados foram adquiridas em comércio local da cidade de Rio Grande – RS.

## 2.2. Obtenção dos conservadores

### 2.2.1. Fermentação em estado sólido do farelo de arroz

O fungo filamentosos utilizado neste estudo foi o *Rhizopus oryzae* CCT 7560 (Banco de Colônias da Fundação Tropical André Tosello), isolado de arroz e identificado antes do seu depósito na coleção. As culturas foram mantidas em Ágar Batata-dextrose (BDA) a 4°C e os esporos incubados durante 7 dias a 30°C.

Para a geração de biomassa, foi utilizada a metodologia padronizada por Oliveira et al. (2009), consistindo em adicionar ao substrato uma solução nutriente ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{NH}_2\text{CONH}_2$  em HCl), na proporção de 4,5:10 (m/m) e a suspensão de esporos na concentração inicial de  $4 \times 10^6$  esporos/g de farelo do fungo. A umidade do meio foi ajustada para aproximadamente 50% com adição de água estéril. A amostra de farelo fermentado foi retirada no tempo de 48h. Por fim, a biomassa fermentada foi congelada para posterior extração de compostos fenólicos.

### 2.2.2. Obtenção dos compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos foi realizada a frio a partir de 1:8 (m/v) de álcool metílico para o farelo de arroz fermentado e para a *Spirulina* LeB-18 1:5 (m/v), logo após foram homogeneizados em agitador horizontal, a 160rpm, durante 2h à temperatura ambiente, após repouso de 15min, foi feita nova adição de solvente, e outro período de agitação de 1h.

Os extratos metanólicos foram secos em rotaevaporador a 60°C e ressuspensos numa solução de etanol 40%, logo após foram clarificados (5mL de BaOH 0,1M e 5mL de  $\text{ZnSO}_4$  5%) e filtrados para obtenção dos compostos fenólicos. O conteúdo de fenóis totais foi quantificado através de método espectrofotométrico utilizando o reagente de Folin-Ciocateau em comprimento de onda de 750nm e empregando uma curva padrão de ácido gálico (2 a 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (SOUZA et al., 2009).

## 2.3. Estudo da conservação

As soluções etanólicas de compostos fenólicos pulverizados sobre discos de pizzas após o fornecimento continuam as concentrações de 1,1mg/g farelo de arroz fermentado e 1,2mg/g *Spirulina* sp. LEB-18, respectivamente. Para o conservador químico, a concentração da solução etanólica foi de 1,2mg/g de propionato de cálcio. Um estudo controle foi necessário para possível comparação, utilizando solução de água e etanol nas mesmas proporções que os conservadores. Logo depois, as massas foram armazenadas em embalagens de polietileno com espessura de 0,12mm, à temperatura ambiente. Por fim, foi avaliado o efeito inibitório da contaminação fúngica, analisando aspectos físico-químicos e microbiológicos, das massas no 0, 5° e 10° dia de armazenamento.

## 2.4. Avaliação físico-química das massas de pizza

Os parâmetros físico-químicos foram determinados como indicadores de possível contaminação fúngica avaliando umidade, pH (pHmetro digital Lutron modelo PH-206) e acidez conforme AOAC (2000).

## 2.5. Avaliação da contaminação microbiana

### 2.5.1. Determinação da Atividade enzimática da Invertase

A determinação da atividade enzimática da invertase foi realizada segundo Levy (1979), a qual consiste na medida de açúcares redutores liberados. Para tanto, foi utilizado um meio de reação contendo sacarose seca (0,5mg/mL) e tampão acetato pH 4,7. Ao meio de reação foi adicionado 1,0mL de extrato, sendo este mantido à temperatura constante de 37°C, por 10 min. Em seguida, foi adicionado 1mL de 3,5 Dinitrosalicílico (DNS) para estimar os teores de açúcares redutores formados, utilizando curva padrão de glicose (0 a 1mg/mL). Os resultados foram expressos em mg/min.proteína.

### 2.5.2. Enumeração de Bolores e Leveduras

Para o enriquecimento das amostras, à temperatura ambiente, foram pesadas 25g do material a ser analisado e homogeneizados com 225mL de água peptonada 0,1%. Após 1h foi realizada a inoculação, a qual foi feita a partir de 0,1mL de cada diluição na superfície do ágar BDA acidificado com ácido tartárico a 10% fixando o pH em 4,5. A incubação foi realizada a 25°C durante 3-5 dias, após este período foi realizada a contagem das colônias presentes no meio (NELSON et al., 1983).

### 2.5.3. Determinação de Glicosamina

A glicosamina produzida pela micota nas massas de pizza foi extraída por homogeneização num misturador (Waring Ò COMERCIAL, 34BL97), com HCl 6 M (Synth, Brasil) adicionado na proporção 3:5 (m/v). A mistura foi aquecida a 100°C durante 20min, neutralizada com NaOH 3 M (Vetec, Brasil), titulação reversa com KHSO<sub>4</sub> a 1% (Vetec, Brasil), e o volume completado com água destilada a 25mL. A partir desta solução, 1mL foi transferido para tubo de ensaio, adicionando 1mL de uma solução de acetil acetona (Sigma-Aldrich, Japão), levando a mistura em banho de água fervente durante 20min. Após o resfriamento foi adicionado 6mL de etanol e 1mL de reagente Erlich (2,67 g p-dimetilaminobenzaldeído dissolvido em 15mL de etanol e 15mL ácido clorídrico), mantendo em estufa a 65°C durante 10min. O teor de glicosamina foi determinado a 530nm e a concentração estimadas pela curva padrão de glicosamina (0,9 a 17,7 µg / mL) (AIDDO et al., 1981).

## 2.6. Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e a significância das diferenças dos resultados foi estimada estatisticamente por ANOVA ( $\alpha=0,05$ ) seguido por teste de médias conforme Tukey, utilizando o software Statística 7.0 (StatSoft Incorporation, Tulsa, OK, USA, 2004).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Obtenção do extrato

A concentração dos compostos fenólicos totais (CFT) produzidos durante o processo fermentativo do farelo de arroz com *Rhizopus oryzae* em 48h e extraídos da microalga *Spirulina* sp. LEB-18 foram de 1,1 e 1,2 mg/g de matriz, respectivamente.

### 3.2. Avaliação físico-química das massas de pizza

Na Tabela 1, são apresentados os resultados das análises físico-químicas empregadas durante 10 dias de armazenamento.

**Tabela 1. Avaliação físico-química das massas de pizza durante 10 dias.**

	Intervalo	Tratamentos			
	(dias)	CFS	CFFAF	Propionato	Controle
Umidade (%)	0	31,13 <sup>Aa</sup>	30,27 <sup>Aa</sup>	30,12 <sup>Aa</sup>	31,11 <sup>Aa</sup>
	5°	30,77 <sup>Ab</sup>	28,61 <sup>Bb</sup>	28,54 <sup>Bb</sup>	28,74 <sup>Bb</sup>
	10°	30,35 <sup>Ab</sup>	26,60 <sup>Bc</sup>	28,56 <sup>Ab</sup>	28,84 <sup>Ab</sup>
pH	0	5,56 <sup>Aa</sup>	5,52 <sup>Ab</sup>	5,72 <sup>Ab</sup>	5,6 <sup>Ab</sup>
	5°	5,08 <sup>Bb</sup>	5,3 <sup>Ac</sup>	5,45 <sup>Ac</sup>	5,4 <sup>Ac</sup>
	10°	5,54 <sup>Cb</sup>	5,77 <sup>Ba</sup>	5,84 <sup>Aa</sup>	5,74 <sup>Ba</sup>
Acidez (%)	0	0,189 <sup>Ac</sup>	0,195 <sup>Ac</sup>	0,195 <sup>Ab</sup>	0,195 <sup>Ac</sup>
	5°	0,225 <sup>Ab</sup>	0,231 <sup>Ab</sup>	0,231 <sup>Aa</sup>	0,237 <sup>Ab</sup>
	10°	0,284 <sup>Aa</sup>	0,249 <sup>Ba</sup>	0,237 <sup>Ca</sup>	0,243 <sup>Ba</sup>

CFS- compostos fenólicos da *Spirulina*; CFFAF- compostos fenólicos do farelo de arroz fermentado. Os valores são expressos em média e os resultados apresentam coeficiente de variação inferior a 20%.

Letras iguais e maiúsculas na mesma linha e letras iguais e minúsculas na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre os tratamentos e dias de armazenamento, respectivamente, pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ).

Conforme a Tabela 1, todas as amostras apresentaram resultados significativamente iguais no dia 0 demonstrando equidade das amostras em todos os tratamentos. Dos parâmetros físico-químicos estudados, houve diferença significativa entre os tratamentos para todos os testes, sendo que para a umidade, houve a tendência a diminuir enquanto que a acidez aumentou no decorrer dos dias de armazenamento. Em pães tradicionais, a umidade situa-se em valores próximos a 30% (ESTELLER e LANNES, 2005), coerentes com o esperado, de acordo com a Tabela 1. Além disso, o autor relaciona algumas alterações que ocorrem em produtos panificados, vinculadas a diversas condições que podem ocasionar perda de crocância devido à absorção ou migração da água do miolo para a crosta, aumento da dureza devido à perda de água para o meio e no processo de retrogradação do amido, tendência ao esfarelamento e modificações no aroma e sabor.

A literatura sugere que os níveis de pH e acidez para produtos de panificação estejam na faixa de 5,2 a 5,6 e de 0,25 a 0,43%, respectivamente (QUAGLIA, 1991). Conforme a Tabela 1, o pH decresceu ao 5° dia e aumentou no 10° dia, enquanto que a acidez aumentou ao longo do armazenamento, essa tendência pode ser explicada pelo fato de haver acúmulos de ácidos da fermentação do processo de fabricação das massas. De acordo com Tejero (2004), as massas possuem efeito antifúngico quando apresentam valores de pH próximos de 5,8 o que é coerente com o resultados apresentados no dia 0.

Considerando os tratamentos aplicados durante os 10 dias de armazenamento, pode-se observar que as pizzas tratadas com os compostos fenólicos naturais apresentaram melhores resultados, principalmente no 10° dia de armazenamento quando comparados com o controle e as pizzas borrifadas com o propionato de cálcio. Este efeito pode ser explicado devido aos compostos fenólicos serem mais ácidos (Archela e Dall'Antonia, 2013), e com isto, após a aplicação nas massas de pizza, torna os valores de pH mais baixo e, conseqüentemente, de acidez maior.

A Tabela 2 apresenta os resultados dos métodos da monitorização do desenvolvimento da biomassa fúngica das massas de pizza e seus tratamentos durante os 10 dias de armazenamento.

### 3.3. Avaliação da Contaminação Microbiana

**Tabela 2. Avaliação da contaminação fúngica dos tratamentos aplicados durante o armazenamento.**

	Intervalo	Tratamentos			
	(dias)	CFS	CFFAF	Propionato	Controle
Glicosamina ( $\mu\text{g/g}$ )	0	0,009 <sup>Ab</sup>	0,006 <sup>Ab</sup>	0,007 <sup>Ab</sup>	0,007 <sup>Ab</sup>
	5°	0,006 <sup>Ab</sup>	0,004 <sup>Bb</sup>	0,006 <sup>Ab</sup>	0,004 <sup>Bb</sup>
	10°	0,026 <sup>Aa</sup>	0,026 <sup>Aa</sup>	0,027 <sup>Aa</sup>	0,026 <sup>Aa</sup>
Invertase (mg/min. proteína)	0	1,32 <sup>Bb</sup>	1,44 <sup>Bb</sup>	0,32 <sup>Cb</sup>	4,74 <sup>Ab</sup>
	5°	13,51 <sup>Aa</sup>	15,16 <sup>Aa</sup>	13,38 <sup>Aa</sup>	12,53 <sup>Aa</sup>
	10°	0,01 <sup>Bc</sup>	0,07 <sup>Ac</sup>	0,09 <sup>Ac</sup>	0,1 <sup>Ac</sup>
Enumeração de bolores e leveduras (UFC/g) ( $\times 10^3$ )	0	<10 <sup>Ac</sup>	<10 <sup>Ac</sup>	<10 <sup>Ab</sup>	<10 <sup>Ab</sup>
	5°	2 <sup>Cb</sup>	28 <sup>Ab</sup>	2 <sup>Ca</sup>	13 <sup>Ba</sup>
	10°	40 <sup>Aa</sup>	38 <sup>Aa</sup>	Inc	Inc

Inc – incontável número de colônias. CFS- compostos fenólicos da *Spirulina*; CFFAF- compostos fenólicos do farelo de arroz fermentado.

Letras iguais e maiúsculas na mesma linha e letras iguais e minúsculas na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre os tratamentos e dias de armazenamento, respectivamente, pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ).

Na Tabela 2 estão os resultados obtidos da avaliação do desenvolvimento da biomassa fúngica em pizzas ao longo do armazenamento. A glicosamina (um monossacarídeo presente na quitina) é considerada um bom indicador de biomassa, pois é um composto que compõe a parede celular de fungos (SPARRINGA e OWENS, 1999). De acordo com a Tabela 2, os teores de glicosamina apresentaram decréscimo no 5° dia, o que pode ser explicado pelo consumo do amido presente na massa como fonte de alimento pelos micro-organismos, diminuindo os valores comparados com o dia 0, já que a glicosamina é uma metodologia baseada na determinação de um açúcar presente na parede celular dos fungos (DESGRANGES et al., 1991). Este resultado pode ser comparado com o da determinação da atividade da invertase, que foi realizada a fim de verificar a hidrólise de sacarose pelos micro-organismos, em que no 5° dia houve um aumento significativo sugerindo contaminação fúngica, assim como mostra a enumeração de bolores e leveduras e teor de glicosamina.

Segundo Pagnussatt et al. (2013), a utilização de fungicida natural (extratos fenólicos de *Spirulina* sp.) mostrou resultados promissores através da determinação de compostos estruturais (glicosamina e ergosterol) em especial pela inativação dos sistemas enzimáticos, reduzindo a velocidade de crescimento das espécies toxigênicas de 12 cepas de *Fusarium graminearum*. Souza et al. (2012) relataram que os fungos *Fusarium graminearum*, *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus flavus* tiveram seu desenvolvimento inibido em até 2,3%/μg fenol total na presença do extrato fenólico de farelo de arroz, além da inibição da produção de micotoxinas em 100%.

Conforme Moraes et al. (2011), foi avaliada a aplicação de filmes ativos aromatizados em contato com a massa de pastel e os mesmos apresentaram atividade antimicrobiana tanto *in vitro* como no alimento. Botre et al. (2010) apresentaram efeito inibitório *in vitro* (*Penicillium* spp. e *Staphylococcus aureus*) desenvolvendo um filme de base celulósica incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta refrigerada.

Entre os conservantes aplicados nas massas de pizzas os que se mostraram mais eficazes foram os compostos fenólicos do farelo de arroz fermentado (CFFAF) e de *Spirulina* sp. LEB-18 (CFS) os quais apresentaram os menores valores dos parâmetros testados (físico-químicos e métodos da monitorização do desenvolvimento da biomassa fúngica) comparados ao longo dos dias armazenados e com o conservador químico e o controle. É comprovada a ação antifúngica de compostos

fenólicos e são amplos os estudos nesta área.

## 4. Conclusão

Após a aplicação dos compostos fenólicos extraídos do farelo de arroz fermentado por *Rhizopus oryzae* e da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB-18, por borrifamento, evidenciou-se significativa diminuição da contaminação fúngica nas massas de pizza, conforme resultados apresentados.

Desta forma, o uso destes compostos extraídos de fontes naturais mostra-se eficaz, sendo alternativa promissora para substituir conservadores químicos.

**Agradecimentos:** FAPERGS, CAPES e CNPq.

## Referências

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 14th ed. Washington: AOAC, 2000. p. 1141
- AIDOO, K.E.; HENDRY, R.; WOOD, B.J. Estimation of Fungal Growth in a Solid State Fermentation System. **Appl Microbiology and Biotechnology**, v. 12, p. 6-9, 1981.
- ARAUJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 5. ed. atual. ampl., Viçosa, MG. UFV, 2011.
- ARCHELA, E.; DALL'ANTONIA, L. H. **Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão**. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, v. 34, n. 2, p. 193-210, 2013.
- BIERHALS, V. S. *et al.* Compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antifúngica de multimisturas enriquecidas com a microalga *Spirulina platensis*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, p. 42-8, 2009.
- BOTRE, D. A. *et al.* Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Rev. Ceres**, 57(3): 283-291, 2010.
- CHRIST-RIBEIRO, A. *et al.* **Aplicação de compostos antifúngicos naturais na conservação de produto de panificação**. 2011. 48 f. Trabalho de Conclusão (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, 2011.
- DESGRANGES, C. *et al.* Biomass estimation in solid state fermentation. I. Manual biochemical methods. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p.200-205, 1991.
- ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. da S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 4, 2005.
- FURLONG, E. B.; COLLA, E.; BORTOLATO, D. S.; BAISCH, A. L. M.; SOUZA-SOARES, L. A. Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais. **Vetor**, Rio Grande, v. 13, p. 105-114, 2003.
- GIANNOU, V.K.; KESSOGLU, V.; TZIA C. Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. **Trends in Food and Technology**, v.14, p. 199-108, 2003.
- HEBEDA, R. E.; ZOBEL H. F. **Baked goods freshness, technology, evaluation, and inhibition of staling**. New York : Board, 1996.
- KRISHNASWAMY, K. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Antioxidants from Grape Seeds (*Vitis vinifera*). **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 441-445, 2012. DOI 10.1007/s11947-012-0800-2.
- NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. **Fusarium species-an illustrated manual for identification**. Pennsylvania. Pennsylvania: State University Press, 1983. OLIVEIRA, M. S. *et al.*

Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Revista Alimentos e Nutrição**, v.18, n. 3, p. 267-275, 2007.

OLIVEIRA, M. S. *et al.* Physico-chemical characterization of fermented rice bran biomass. **Food Science and Technology**, Campinas, p. 7-11, 2009.

PAGNUSSATT, F. A. Fusarium graminearum growth inhibition mechanism using phenolic compounds from *Spirulina* sp. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 33, p. 75-80, 2013.

LEVY, J. A. **Bioquímica Fundamental**: caderno de práticas. Rio Grande: Grafurg, 1979.

Moraes, A. R. F. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, p. 537-543, 2011.

QUAGLIA, G. **Ciencia y tecnología de la panificación**. Zaragoza: Acribia, 1991.

SCHMIDT, C.G. *et al.* Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rhizopus oryzae*. **Food Chem**, v.146, p. 371–377, 2014.

SOUZA, M. M. *et al.* Estudo das condições de extração de compostos fenólicos de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista do Instituto Adolf Lutz**, v. 68, n.2, p. 192-200, 2009.

\_\_\_\_\_. Avaliação das atividades antifúngica e antimicotoxina de extratos fenólicos de farelo de arroz. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, p. 437-441, 2012.

\_\_\_\_\_. Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 35, n. 6, 2011.

SPARRINGA, R. A.; OWENS, J. D. Glucosamine content of tempe mould, *Rhizopus oligosporus*. **International Journal of Food Microbiology**, v.47, p.153–157, 1999.

TEJERO, F. Conservación del pan e la confitería. **Revista FEVIPAN**, Maracay, n. 15, p. 24-26, 2004.

VICHAPONG J. *et al.* High performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds and their antioxidant activities in rice varieties. **Food Science and Technology**, v. 43; p. 1325-1330, 2010.

WARDLAW, G. M.; SMITH, A. M. **Nutrição Contemporânea**. 8. ed. Porto Alegre: AMGH, 2013.

WU, T. Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase. **J Agric Food Chem**, v. 61, p. 8185-90, 2013.