



JOANA MORATTO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE ANÁLOGO A FILÉ DE PEIXE
USANDO FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA DE COGUMELOS
DE *Pleurotus ostreatus* POR BACTÉRIAS LÁTICAS
PRODUTORAS DE EXOPOLISSACARÍDEOS**

**LAVRAS – MG
2024**

JOANA MORATTO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE ANÁLOGO A FILÉ DE PEIXE USANDO
FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA DE COGUMELOS DE *Pleurotus ostreatus* POR
BACTÉRIAS LÁTICAS PRODUTORAS DE EXOPOLISSACARÍDEOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves
Orientador

Profa. Dra. Olga Lucía Mondragón Bernal
Co-orientadora

**LAVRAS – MG
2024**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva,	Joana	Moratto.
Desenvolvimento de análogo a filé de peixe usando fermentação semi-sólida de cogumelos de <i>Pleurotus ostreatus</i> por bactérias lácticas produtoras de exopolissacarídeos / Joana Moratto Silva. - 2024.		
126		p.
Orientador(a): José Guilherme Lembi Ferreira Alves.		
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras,		
		2024.
Bibliografia.		
1. Plant-based. 2. Exopolissacarídeos. 3. Hiratake. I. Alves, José Guilherme Lembi Ferreira. II. Título.		

JOANA MORATTO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE ANÁLOGO A FILÉ DE PEIXE USANDO
FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA DE COGUMELOS DE *Pleurotus ostreatus* POR
BACTÉRIAS LÁTICAS PRODUTORAS DE EXOPOLISSACARÍDEOS**

**DEVELOPMENT OF A FISH FILLET ANALOG USING SEMI-SOLID
FERMENTATION OF *Pleurotus ostreatus* MUSHROOMS BY
EXOPOLYSACCHARIDE-PRODUCING LACTIC ACID BACTERIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2024.
Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos UFLA
Dra. Grazielle Grossi Bovi Karatay GFI

Prof. Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves
Orientador

Profa. Dra. Olga Lucía Mondragón Bernal
Co-orientadora

**LAVRAS – MG
2024**

O conteúdo desta obra é de responsabilidade do(a) autor(a) e do editor.
Não se responsabiliza por danos ou perdas de terceiros.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por nunca me abandonar ou desamparar.

Com muito amor e gratidão dedico à todos que marcaram com tanto carinho e cuidado minha trajetória pessoal e profissional até aqui. Obrigada família, amigos, professores, colegas de profissão por serem tão importantes na minha trajetória.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por sempre me permitir sentir sua presença, por me guiar com tanto carinho e cuidado, por sempre me permitir recomeçar, por sempre me dar forças para seguir em frente e por me permitir chegar em lugares tão bonitos, que nem nos meus melhores sonhos eu poderia imaginar.

Agradeço à Fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a The Good Food Institute (GFI-BRASIL) pela concessão de bolsa e financiamento do projeto e à Universidade Federal de Lavras (UFLA), especialmente ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) pela estrutura e oportunidade de realizar esse trabalho.

Gostaria de agradecer meu orientador Professor Dr. José Guilherme e sua esposa e coorientadora Professora Dra. Olga Lucía por todos os ensinamentos e possibilidades, por toda a atenção e disponibilidade e por todos os momentos e conversas compartilhados durante esse período.

Aos meus pais Roger e Rosa e ao meu irmão João Paulo, direciono minha maior gratidão, sem vocês nada disso seria possível, obrigada por todo amor, solidariedade, parceria, incentivo, ensinamentos, vocês são a minha maior alegria e meu maior privilégio.

Agradeço em especial à Nágele, pela companhia, cuidado, amizade, cumplicidade e parceria, muito obrigada por ter sonhado esse sonho comigo, pela parceria desde a aprovação até esse exato segundo, sem você nenhuma das etapas dessa conquista teria acontecido, muito obrigada, você é incrível.

Agradeço aos meus amigos e a toda a minha família, biológica e escolhida Maria Luiza e Isabela Yasbeck, que tanto me acolheram e ajudaram em todos os momentos, especialmente os de maior tribulação, eu nunca vou conseguir agradecer o suficiente por vocês terem entrado na minha vida e por partilharem tanto da vida comigo, a vocês, minha mais sincera gratidão. Aos meus padrinhos Sueli e Régis, minhas primas Lilian e Elaine, meus tios Júnior, Luciano e Lourdes e minha linda amiga Juliana Neto, minha cunhada Daiane e minha amiga Fernanda Coutinho, agradeço por me permitirem saber que eu nunca estarei sozinha e que sempre posso contar com as orações, torcida, cuidado e carinho de vocês e principalmente pela alegria que esses sentimentos me proporcionam todos os dias.

A todos os meus amigos, colegas, professores e profissionais que fazem e fizeram parte da minha caminhada, Luisa, Nicolli, Leandro, Ana Paula, Gabriel, Josiane, Nayara, Andreia, Katherine, Emerson, Larissa, Ana Cristina, Jhenifer, Sabrina, Dayana, Guilherme, Ana Cristina Ferreira, Mariana Dutra, Emanuelle Moraes e Creuza vocês são uma parte muito importante da pessoa e profissional que tenho me tornado e sou imensamente grata pela amizade, apoio, torcida, sorriso, abraço, conversa, ensinamento e ajuda de vocês, sem vocês a caminhada com certeza teria sido mais difícil.

A todos os colegas e profissionais do laboratório e departamento, agradeço pela contribuição para a realização deste trabalho.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana. ”

(Carl Jung)

RESUMO

O aumento na procura por fontes alternativas de proteína não-animal, motivada por questões ambientais, de saúde e de respeito à vida animal tem aberto possibilidades para o mercado dos produtos denominados análogos. Os cogumelos comestíveis, são corpos de frutificação de certos fungos, constituídos por diversos nutrientes cujo consumo em países como o Brasil vem aumentando. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de variáveis de formulação e fermentação do meio à base de cogumelo de *Pleurotus ostreatus* (PO) para elaboração de análogos à filé de peixe. Foram testados dois microrganismos para fermentação: *Leuconostoc pseudomesenteroides* (LM) e *Weissella cibaria* (WC). Foi realizado um planejamento Plackett&Burman 8 (PB8) para avaliar o tratamento térmico dos cogumelos, tendo -se como quatro variáveis independentes: temperatura; tempo; concentração de ácido cítrico (%m/v) e concentração de bicarbonato (%m/v). O melhor binômio temperatura/tempo de tratamento térmico dos cogumelos foi 80°C/10 min, sem adição de ácido cítrico ou bicarbonato, com redução da atividade enzimática de 109 e 182 ((u.E/min)/g de cogumelo fresco para 18 e 16 ((u.E/min)/g de cogumelo, para polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), respectivamente. O microrganismo *W. cibaria* (WC) foi selecionado, pela melhor produção de exopolissacarídeos (EPS) em relação ao LM. Em seguida, foi realizado um delineamento PB12 com 4 pontos centrais e 8 variáveis independentes: proteína isolada de soja - PIS (%m/m), proteína de ervilha – PE (%m/m), farinha de aveia - FA (%m/m), farinha de feijão branco - FFB (%m/m), óleo de microalgas - Ô3 (%m/m), sacarose – S (%m/m), tempo de tratamento térmico - TT (min), tempo de ultrassom - TU (min). As respostas foram: perfil de textura do análogo cru e após cocção (dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência), padrão de luminosidade e cromaticidade do análogo cru e após cocção (L^* , a^* , b^*), pH do início e final fermentação, produção de EPS (g/L), crescimento WC (Log UFC/g), proteína em base úmida (%) e parâmetros sensoriais: aparência, aroma, textura, sabor e fração total de defeitos. Constatou-se que não se fez necessário o uso do ultrassom durante o tratamento térmico dos análogos, a PIS quando utilizada no maior nível de este estudo (8% m/m) causou maior dureza e menor número de defeitos na avaliação sensorial de textura. Em conclusão, a *W. cibaria* foi capaz de fermentar o meio à base de cogumelo e insumos e também de produzir EPS, resultando em um potencial protótipo de análogo de peixe, no entanto, sabor, aroma e textura ainda deverão ser otimizados.

Palavras-chave: hiratake, escurecimento enzimático, polifenoloxidase, peroxidase, exopolissacarídeos, fungos comestíveis, cola microbiana, *Weissella cibaria*.

ABSTRACT

The increase in demand for non-animal protein sources, driven by environmental, health, and animal welfare concerns, has opened up possibilities for the market of products known as analogs. Edible mushrooms, the fruiting bodies of certain fungi, are comprised of various nutrients, the consumption of which is increasing in countries like Brazil. The aim of this study was to evaluate the effect of formulation and fermentation variables of a medium based on *Pleurotus ostreatus* (PO) mushroom for the production of fish fillet analogs. Two microorganisms were tested for fermentation: *Leuconostoc pseudomesenteroides* (LM) and *Weissella cibaria* (WC). A Plackett&Burman 8 (PB8) design was conducted to assess the thermal treatment of mushrooms, with four independent variables: temperature, time, citric acid concentration (%w/v), and bicarbonate concentration (%w/v). The optimal temperature/time binomial for thermal treatment of mushrooms was 80°C/10 min, without the addition of citric acid or bicarbonate, resulting in a reduction of enzymatic activity from 109 and 182 (u.E/min)/g of fresh mushroom to 18 and 16 (u.E/min)/g of mushroom, for polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD), respectively. The microorganism *W. cibaria* (WC) was selected for its superior exopolysaccharide (EPS) production compared to LM. Subsequently, a PB12 design with 4 central points and 8 independent variables was conducted: soy protein isolate - PIS (%w/w), pea protein - PE (%w/w), oat flour - FA (%w/w), white bean flour - FFB (%w/w), microalgae oil - Ô3 (%w/w), sucrose - S (%w/w), thermal treatment time - TT (min), ultrasound time - TU (min). The responses included: texture profile of the analog before and after cooking (hardness, elasticity, cohesiveness, gumminess, chewiness, and resilience), luminosity and chromaticity pattern of the analog before and after cooking (L^* , a^* , b^*), initial and final fermentation pH, EPS production (g/L), WC growth (Log CFU/g), protein content on a wet basis (%), and sensory parameters: appearance, aroma, texture, taste, and total defect fraction. It was found that ultrasound during the thermal treatment of analogs was unnecessary; SPI, when used at the highest level in this study (8% w/w), resulted in increased hardness and fewer defects in the sensory texture evaluation. In conclusion, *W. cibaria* was able to ferment the mushroom-based medium and inputs and also produce EPS, resulting in a potential fish analog prototype, however, taste, aroma, and texture still need to be optimized.

Keywords: hiratake, enzymatic browning, polyphenoloxidase, peroxidase, exopolysaccharides, edible fungi, microbial glue, *Weissella cibaria*.

INDICADORES DE IMPACTO

O desenvolvimento do presente trabalho contribuiu socialmente, buscando reduzir o desperdício de cogumelos, oferecer uma opção nutritiva para pessoas com restrições alimentares e promover a sustentabilidade ambiental. O projeto envolveu a participação de produtores regionais e a sociedade externa à UFLA, ampliando seu impacto social. Tecnicamente, o estudo avançou na produção alimentar sustentável, avaliando variáveis de formulação e fermentação. Economicamente, promoveu a diversificação econômica local e fortalece o mercado de alimentos *plant-based*, alinhando-se à Política Nacional de Extensão. Culturalmente, incentiva a conscientização sobre sustentabilidade e hábitos alimentares saudáveis. O trabalho está alinhado com diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, contribuindo para a Agenda 2030.

IMPACT INDICATORS

The development of this work contributed socially by aiming to reduce mushroom waste, offer a nutritious option for people with dietary restrictions, and promote environmental sustainability. The project involved the participation of regional producers and the external community of UFLA, expanding its social impact. Technologically, the study advanced sustainable food production by evaluating formulation and fermentation variables. Economically, it promoted local economic diversification and strengthened the plant-based food market, aligning with the National Extension Policy. Culturally, it encourages awareness of sustainability and healthy eating habits. The work is aligned with various United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), contributing to the 2030 Agenda.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação estrutural <i>Pleurotus</i>	24
Figura 2. <i>P. ostreatus</i>	25
Figura 3. Morfologia do cogumelo	28
Figura 4. Fisiologia da tilápia	29
Figura 5. Provável formação de EPS envolvendo a colônia de BAL	37
Figura 6. Fluxograma de processamento de análogo de filé de peixe	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atributos de textura dos peixes salmão e tilápia e dos cogumelos <i>P. ostreatus</i> e <i>P. djamor</i>	31
Tabela 2. Relação de valores codificados e reais das variáveis independentes do planejamento experimental Plackett-Burman 8	62
Tabela 3. Relação de valores codificados e reais das variáveis independentes do planejamento experimental Plackett-Burman 12	68
Tabela 4. Respostas dos tratamentos térmicos do PB8 para perfil de textura do pílco dos cogumelos de <i>P. ostreatus</i>	75
Tabela 5. Respostas dos tratamentos térmicos do PB8 para luminosidade e cromaticidade (L*; a*; b*) e redução da atividade enzimática (PPO e POD).....	76
Tabela 6. Efeitos das variáveis independentes sobre as respostas de perfil de textura, cor e atividade enzimática.....	80
Tabela 7. Efeito do tempo de branqueamento sobre perfil de textura, padrão de luminosidade/cromaticidade e atividade enzimática de pílco de <i>P. ostreatus</i>	82
Tabela 8. Efeito do tempo de branqueamento a 80°C sobre perfil de textura, padrão de luminosidade/cromaticidade e atividade enzimática de estipes trituradas de <i>P. ostreatus</i>	83
Tabela 9. Respostas do PB12 para perfil de textura das amostras cruas e após cocção	86
Tabela 10. Respostas do PB12 para cor das amostras cruas e após a cocção, pH no início e após a fermentação, crescimento, EPS e proteína	89
Tabela 11. Efeitos variáveis independentes sobre perfil de textura das amostras cruas e após cocção.....	100
Tabela 12. Efeitos variáveis independentes sobre cor das amostras cruas e após a cocção, pH no início e após a fermentação, crescimento, EPS e proteína	103
Tabela 13. Respostas do PB12 para os parâmetros defeitos na aparência, aroma, textura, sabor e fração total de defeitos da análise sensorial dos análogos cozidos	105
Tabela 14. Efeitos variáveis independentes sobre aparência, aroma, textura, sabor e fração total de defeitos da análise sensorial.....	106

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANPC - Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos;
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
ASD - Análise Sensorial Descritiva;
B - Controle ou Branco;
BAL - Bactérias Ácido Láticas;
CCMA - Coleção de Culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola;
COEP - Comitê de Ética em Pesquisa;
DBI - Departamento de Biologia;
DCA - Departamento de Ciências dos Alimentos;
EPS - Exopolissacarídeos;
FA - Farinha de Aveia;
FAPERGS - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul;
FFB - Farinha de Feijão Branco;
GRAS - Geralmente reconhecido como seguro;
LM - *Leuconostoc Pseudomesenteroides*;
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
MRS - Man, Rogosa e Sharpe;
N - Newton;
Ô3 - Óleo de Microalgas(Ômega 3) Vegano;
PB12 – Plackett&Burman;
PB8- Plackett&Burman;
PC - Ponto Central;
PE - Proteína de Ervilha;
PIS - Proteína Isolada de Soja;
PO – *Pleurotus Ostreatus*
POD - Peroxidase;
PPO - Polifenoloxidase;
S - Sacarose;
UE - Unidade Enzimática;
UFC - Unidade Formadora de Colônia;
UFLA - Universidade Federal de Lavras;
VRBG - Violet Red Bile Glucose;
WC – *Weissella Cibaria*

SUMÁRIO

Capítulo 1. INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Perfil de comportamento do consumidor moderno em relação à alimentação	17
2.2 Análogos a produtos de origem animal	18
2.3 Cogumelos comestíveis	20
2.3.1 <i>Pleurotus spp</i>	23
2.4 Tratamento térmico de cogumelos	25
2.4.1 Enzimas Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (POD)	26
2.5 Comparação entre a estrutura de cogumelos e o tecido muscular de peixes	27
2.6 Comparação entre a composição dos cogumelos e a de peixes	31
2.7 Perfil sensorial de cogumelos comestíveis e de peixes	33
2.8 Fermentação semi-sólida usando cogumelos comestíveis e bactérias ácido lácticas produtoras de exopolissacarídeos	35
3. CONSIDERAÇÕES GERAIS	38
REFERÊNCIAS	39

Capítulo 2. ARTIGO

1. INTRODUÇÃO	59
2. MATERIAL E MÉTODOS	61
2.1 Obtenção das matérias-primas	61
2.2 Quantificação de <i>Enterobacteriaceae</i> dos cogumelos <i>in natura</i>	61
2.3 Otimização da etapa de branqueamento	61
2.3.1 Branqueamento das estipes trituradas	62
2.3.2 Textura	62
2.3.3 Medição de cor	63
2.3.4 Atividades enzimáticas de Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (POD)	63
2.3.5 Microrganismo	64

2.4 Testes preliminares de fermentação de chapéus e estipes trituradas com <i>L. pseudomesenteroides</i> e <i>W. cibaria</i>	66
2.5 Elaboração de análogos à filé de peixe	66
2.5.1 Tratamento térmico com uso de tripolifosfato de sódio e <i>sous vide</i>	66
2.5.2 Matérias-primas, insumos e coadjuvantes.....	67
2.5.3 Elaboração de análogos de filé de peixe	67
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
3.1 Quantificação de enterobactérias dos cogumelos hiratake <i>in natura</i>	74
3.2 Avaliação do branqueamento	74
3.3 Otimização do branqueamento	81
3.4 Avaliação dos análogos a filé de peixe	85
4. CONCLUSÕES	108
REFERÊNCIAS	109

Capítulo 1. INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO

A preocupação com formas de alimentação mais saudáveis e conscientes têm aumentado desde o início do século XXI, no Brasil e no mundo. Bezerra *et al.* (2021) apontaram que entre os anos de 2008/2009 e 2017/2018 o consumo de alimentos como sanduíches, pizzas e salgados, fritos e assados, apresentou redução drástica no intervalo de nove anos do estudo.

A dieta adotada por veganos, vegetarianos e flexitarianos, motivada pela filosofia de vida, compaixão pelos animais, motivos religiosos e preocupação com a saúde e o meio ambiente, tem aumentado o consumo de fontes alternativas de proteínas vindas de grãos, cereais, cogumelos e oleaginosas, paralelamente ao consumo de produtos congelados e de fácil preparo. Uma das matérias-primas com potencial para formulação de produtos para vegetarianos e veganos são os cogumelos, pela grande variedade de espécies comestíveis, valor nutritivo e sabores diversos (ZHANG, 2022).

O Brasil tem apresentado uma crescente e significativa expansão no cultivo de cogumelos comestíveis. De acordo com a Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos - ANPC (2018), o cultivo tem se disseminado por várias regiões do país, destacando os Estados de São Paulo e Paraná como principais produtores, seguidos por cultivos crescentes em Minas Gerais, Rio de Janeiro, sul da Bahia, Pernambuco, Brasília e Rio Grande do Sul. A Associação estima que no país existam mais de 300 produtores de cogumelos que, em sua maioria, são micro e pequenos agricultores familiares.

Cerca de 2.000 toneladas/ano de cogumelos do gênero *Pleurotus spp.*, são produzidos no Brasil, sendo a segunda maior produção de cogumelos no país, perdendo apenas para as 8.000 toneladas/ano de *Agaricus spp.*, conhecido popularmente como champignon (COSTA, 2022).

O consumo anual de 288 gramas *per capita* de cogumelos comestíveis no Brasil ainda é baixo, se comparado com o consumo de 2 kg em alguns países europeus ou com países asiáticos, que consomem mais de 8 kg de cogumelos por habitante (RODRIGUES, 2022). Ainda assim, a cultura do cogumelo mostra-se promissora, com bom retorno econômico e com significativa contribuição com a cultura agrícola regional especialmente por quase sua totalidade ser proveniente de pequenos agricultores (SILVA; SILVA; BUENO, 2020).

Os cogumelos, são considerados alimentos altamente nutritivos, compostos por fibras, vitaminas do complexo B e minerais essenciais, característica que aliadas à sua textura carnuda e sabor umami o tornam ideal para substituir a carne em análogos e alimentos *plant-based*.

Segundo o The Good Food Institute (GFI, 2022), os alimentos *plant-based* são produzidos a partir de plantas e devem se assemelhar em cor, sabor, textura e aparência dos produtos de origem animal. O desenvolvimento desses alimentos visa substituir carnes, frutos do mar, leite, ovos e laticínios e não incluem os alimentos tradicionais feitos de plantas, como leguminosas, tofu e tempeh.

A elaboração de produtos análogos aos de origem animal não é tarefa fácil, pois as matrizes de origem animal, vegetal e de origem microbiana apresentam composição e estrutura bem diferentes. Existem duas estratégias principais para elaboração de análogos usando proteínas alternativas: a primeira usando proteínas de origem vegetal e a segunda usando proteínas de origem microbiana (GFI, 2019).

O análogo desenvolvido nesse trabalho empregou as duas estratégias citadas acima, usando cogumelos hiratake adicionados de farinhas, proteínas isoladas e óleo vegetal, que constituíram o substrato da fermentação semi- sólida para produção de exopolissacarídeos, compostos extracelulares produzidos a partir da bactéria ácido láctica *w. cibaria*, para atuar como proteína microbiana capaz de auxiliar nas propriedades de textura do análogo.

Os exopolissacarídeos, polissacarídeos extracelulares produzidos por alguns fungos e bactérias que apresentam vários efeitos benéficos a saúde humana, podendo atuar como imunomoduladores, antioxidantes, antitumorais e também auxiliar no equilíbrio da microbiota intestinal, não constatado que por efeito prebiótico. Quando produzidos por bactérias ácido lácticas além de influenciarem no crescimento de bifidobactérias, os EPS apresentaram baixa degradação quando expostos ao sistema gastrointestinal (MONTEIRO *et al.*, 2021).

Como macromoléculas produzidas por determinados microrganismos, os exopolissacarídeos, são produzidos quando alguns fungos e bactérias se encontram em condições ambientais desfavoráveis, representando uma estratégia metabólica para a sobrevivência e crescimento do mesmo (ANDRADE *et al.*, 2015). Durante o processo de fermentação, fungos e bactérias transformam produtos inicialmente de baixa viscosidade em fluidos de elevada viscosidade. E quando produzidos por microrganismos que geram fluidos de viscosidade significativa, têm maior potencial de comercialização, pois a recuperação dos exopolissacarídeos do meio fermentativo é um processo simples (SILVA, *et al.*, 2006).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver filés análogos a peixe a partir de cogumelos da espécie de *Pleurotus ostreatus*; empregando uma formulação contendo óleos e/ou gorduras vegetais, farinhas, e exopolissacarídeos produzidos a partir de bactérias ácido lácticas para melhorar a adesão do produto processado.

Os objetivos específicos foram:

- Selecionar as melhores condições de tratamento térmico dos cogumelos de *Pleurotus ostreatus*, avaliando a inibição do escurecimento enzimático e parâmetros de textura;
- Avaliar duas espécies de bactérias lácticas e as melhores condições para produção de exopolissacarídeos e de elaboração do análogo à filé de peixe;
- Avaliar o potencial sensorial dos protótipos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Perfil de comportamento do consumidor moderno em relação à alimentação

As restrições alimentares normalmente estão ligadas à filosofia de vida, preocupação com a degradação do meio ambiente, compaixão pelos animais, saúde ou motivos religiosos e tem aberto caminhos para novos perfis gastronômicos associados a uma maior visão ecológica dos sistemas econômicos e de consumo. Esse tipo de público promove vantagens nutricionais de um maior e melhor consumo de alimentos à base de plantas destinados à população em geral, e se mostra determinantemente importante para produtores e vendedores de alimentos na constante necessidade de adaptar suas estratégias às novas tendências na alimentação e no consumo (Ekmeiro-Salvador; Arévalo-Vera, 2021).

A preocupação com a saúde e com os hábitos alimentares vem aumentando nos últimos anos, principalmente nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. No Brasil em 2018, 14% da população se declarou vegetariana (BARROS; BIERHALS; ASSUNÇÃO, 2020). Ainda, cerca de 20% da população declararam que, mesmo não sendo vegetarianos, consomem esse tipo de produto ou tem interesse em consumir, mostrando interesse em substituir produtos cárneos por alimentos de origem vegetal. Em 2015, as vendas globais de produtos veganos atingiram 2,22 bilhões de dólares e em 2019, esse valor atingiu cerca de 55 bilhões de dólares, com perspectiva de alcançar mais de 60 bilhões de dólares em 2023 (REVILLION *et al.*, 2020).

No Brasil, o flexitarianismo, denominação dada à prática da redução da quantidade de carne na dieta, alcançou de 29% em 2018 para 50% em 2020 e esses números tendem a crescer, já que cerca de 49% dos brasileiros está reduzindo o consumo de carne e aproximadamente 84,9% da população se diz disposta a experimentar carnes vegetais idênticas às de origem animal (GFI, 2019).

Os cogumelos comestíveis apresentam baixo teor de gordura, alto teor de fibras, significativo teor de proteína em base seca, vários aminoácidos essenciais, alto poder antioxidante, boa digestibilidade e são capazes de trazer diversos benefícios à saúde, o que justifica ser um dos alimentos alternativos consumidos pelo público vegetariano/vegano e flexitariano. Seu consumo tem aumentado gradualmente tanto no mercado nacional quanto no mercado mundial (RIBEIRO; GOMES; CHARLES; 2021; PAZZA *et al.*, 2019).

2.2 Análogos a produtos de origem animal

Os alimentos análogos podem ser definidos como alternativos desenvolvidos para se assemelhar funcional e sensorialmente aos alimentos de origem animal, podendo ser formulados a base de vegetais, a partir de microrganismos ou produzidos a partir de cultura de células (RAMIREZ; OSORIO; PINILLA, 2021).

Os análogos de base vegetal, compõem um nicho com grande expectativa de crescimento nos próximos anos, pois se apresenta como uma divisão bem estabelecida que atende o público restritivo há algumas décadas. Países europeus foram os principais responsáveis por lançamentos de análogos à carne e pescado no período entre 2019 e 2021, seguidos pelo Canadá, Estados Unidos, Brasil e Austrália (ANDREANI *et al.*, 2023). O desenvolvimento do mercado de análogos de carne e pescado ganhou força no Brasil a partir de 2019, com lançamentos sucessivos de diferentes marcas e disponibilização de análogos de hambúrgueres em restaurantes do tipo fast-food (GFI, 2019).

A ausência de um marco regulatório específico para os análogos à base de vegetais, não impediu seu lançamento e crescimento no mercado. Mas, exige que o setor se adapte aos regulamentos destinados a outros produtos. No entanto, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) iniciou discussões sobre a regulamentação desses produtos no Brasil em 2020, realizando um workshop e uma Tomada Pública de Subsídios em 2021 para coletar opiniões e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) também trabalha para que assuntos regulatórios, como segurança dos ingredientes, uso de aditivos e rotulagem, sejam supridos de legislação específica (BRASIL, 2022a; BRASIL, 2022b; ANVISA, 2022).

Em 2023, o MAPA abriu uma consulta pública para estabelecer requisitos mínimos de identidade e qualidade para produtos análogos de base vegetal, incluindo regras para identidade visual e rotulagem desses produtos. A consulta, oficializada pela Portaria nº 831 de 28 de junho de 2023, ocorreu entre 3 de julho e 16 de setembro de 2023, mas, até o momento não houve nenhuma publicação com regulamentação específica para esses produtos.

Os parâmetros para análise de cogumelos comestíveis ou de produtos feitos com o uso de suas biomassas para complementação nutricional devem atender aos parâmetros descritos na instrução normativa nº 60 de 2019, que traz as listas de padrões microbiológicos para alimentos (ANVISA, 2021).

Ferrari (2022) traz em seu trabalho que os produtos análogos ainda não possuem nenhuma legislação no Brasil que trate de seus parâmetros de identidade e qualidade. Do ponto de vista internacional essa classe de produtos segue a ISO 23662 de 2021, composta por

critérios técnicos para produtos que possam compor a alimentação vegana. Alguns países ainda possuem guias ou apenas orientações publicadas em órgãos legislativos. De acordo com as regulamentações e a agenda estipulada pelos dirigentes do Codex alimentarius, as preposições e disposições a respeito de produtos análogos ao de origem animal devem ser definidas até o fim de 2023. Produtos elaborados antes devem usar de requisitos básicos em padrões de qualidade e segurança alimentar (ANVISA, 2021).

A procura pela melhora na qualidade de vida vem atrelada a mudança em hábitos alimentares, juntamente com a inserção de produtos alimentícios diferentes dos convencionais nas refeições diárias. Dentre esses novos produtos, aqueles que são de origem vegetal para obtenção do valor protéico se mostram extremamente importantes para a formulação, e uso em novos delineamentos de dietas saudáveis, que substituem o valor, quantitativamente, de proteínas em produtos de origem animal (FRESÁN *et al.*, 2019; DEKKERS; BOOM; GOOT, 2018).

Essa modificação da dieta humana, a troca dos produtos de origem animal por análogos se faz necessária, pois o percentual de gordura e sódio destes alimentos prejudicam a saúde a longo prazo, e a curto prazo em indivíduos que já apresentem predisposição a problemas cardiovasculares, renais e hepáticos (PAGLIARINI *et al.*, 2018; ZHONG *et al.*, 2020).

Herz *et al* (2021), ressaltam que uma das grandes dificuldades na produção de alimentos análogos é a aceitação sensorial, uma vez que, na maioria das vezes, não apresentam os mesmos teores de proteína, de gordura e outros compostos que fornecem sabor e textura específicos dos alimentos de origem animal.

O desenvolvimento de novos produtos não se reduz apenas pela troca simples da matéria-prima que serve de base para a produção, mas sim a preocupação de que essas novas matérias primas, sejam elas sub ou coprodutos, possam reduzir teores de metabólitos e compostos problemáticos, e que ainda sim agregam funcionalidade no consumo, apresentando compostos bioativos, e também tenham estabilidade de reações durante o armazenamento, que reflete nas propriedades finais do produto (PÉREZ- MONTES *et al.*, 2021).

Os parâmetros para análise de cogumelos comestíveis ou de produtos feitos com o uso de massas para complementação nutricional, devem atender aos parâmetros descritos na instrução normativa nº 60 de 2019, que traz as listas de padrões microbiológicos para alimentos (ANVISA, 2021).

Ferrari (2022) traz em seu trabalho que os produtos análogos ainda não possuem nenhuma legislação que trate de seus parâmetros de identidade e qualidade, nacionalmente. E

do ponto de vista internacional e de livre comércio mundial essa classe de produtos segue a ISO 23662 de 2021, composta por critérios técnicos para produtos que possam compor a alimentação vegana. Alguns países ainda possuem guias ou apenas orientações publicadas em órgãos legislativos. De acordo com as regulamentações e a agenda estipulada pelos dirigentes do Codex alimentarius, as preposições e disposições a respeito de produtos análogos à fontes de proteínas devem ser definidas até o fim de 2023. Produtos elaborados antes, devem usar de requisitos básicos em padrões de qualidade e segurança alimentar (ANVISA, 2021).

2.3 Cogumelos comestíveis

Segundo Chang e Mshigeni (2013) os cogumelos são macrofungos com corpos de frutificação característicos, sendo grandes o suficiente para serem visíveis a olho nu e coletados com as mãos. Podem ser epígeos, quando seus corpos de frutificação são formados acima do solo, ou hipógeos, formados abaixo do solo.

Os cogumelos são fungos heterotróficos e absorvem então energia de compostos orgânicos, sendo desta forma um dos principais decompositores da matéria orgânica da natureza (SANTOS; JUNIOR, 2015). Esses organismos, utilizam esses compostos em seu metabolismo como fonte de carbono e energia, tornando a produção de cogumelos comestíveis uma finalidade viável no processo de bioconversão de material lignocelulósico, pois possuem alta capacidade de degradar compostos a base de lignina e celulose através de um sistema enzimático eficiente (PAIVA *et al.*, 2021).

Os cogumelos *in natura*, possuem em média de 7 a 15 dias de vida útil comercial, em refrigeração, sofrendo alterações microbianas e sensoriais significativas o que os torna perecíveis em curto período de tempo e causando assim, perdas econômicas aos produtores (ORSINE; BRITO; NOVAES, 2012). No entanto, os cogumelos possuem grande potencial para uso como matéria-prima ou insumo para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios dirigidos a diversos públicos, devido à imensa variedade de espécies comestíveis, que possuem diversas características nutricionais, formas, texturas, cores e sabores (JESUS *et al.*, 2022).

Segundo Niskanena e colaboradores (2022) existem mais de 3 milhões de espécies de fungos pelo mundo, em 2019, 1866 fungos não conhecidos foram registrados. De acordo com Capra e Tonin (2019), existem mais de 200 espécies comestíveis de cogumelos no mundo porém somente 35 são exploradas comercialmente, enquanto no Brasil as espécies mais consumidas são: Champignon de Paris, *Pleurotus ostreatus* (shimeji branco e shimeji preto e Hiratake), *P. djamor* ou *P. ostreatoroseus*, *P. eryngii*, *P. pulmonarius* e *P. citrinopileatus*,

Lentinula edodes ou Shiitake, *Agaricus blazei* ou conhecido comumente por denominações, como, “Cogumelo Medicinal”, “Champignon do Brasil”, “Royal Sun Agaricus”, “The Brazilian Medicinal Mushroom” e, no Japão, “Himematsutake”; e outros como: Enoki, Morel, Trufa, Cantarelo, Porcini e Portobelo (EIRA; MINHONI, 1997).

Desde os pontos de vista ambiental, saúde e bem-estar e direitos dos animais, a produção e consumo de cogumelos e seus derivados é mais sustentável e correta do que a proteína animal, por exemplo, a oriunda de peixes: 1) os cogumelos têm um ciclo produtivo curto de até 4 meses enquanto os peixes variam entre 6 meses e 4 anos (LEON, 2001; MONTERO, 2004) diminuindo assim as pegadas hídricas e de carbono. O resíduo da produção de cogumelos (substrato exaurido) tem variadas aplicações agrícolas, seja por serem ricos em nutrientes como fósforo e potássio, ou pobres, porém bons condicionadores de solo, podendo ser utilizado como material volumoso base de substrato para o plantio de mudas de hortaliças ou como condicionador de solo em canteiros, funcionando como uma "esponja" e mantendo o local úmido por maiores períodos de tempo. O uso de substrato de cogumelo é gasto também em novas culturas de cogumelos para promover a transição para uma economia circular (COLLELA *et al.*, 2019; LOPES *et al.*, 2015; MARQUES., *et al.*, 2014); 2) os cogumelos são produzidos a partir do uso de resíduos orgânicos como substrato (a base de feno de capim, bagaço de cana-de-açúcar, farelo de arroz, farelo de trigo, toras de árvores, serragem de eucalipto), diminuindo o impacto ambiental dos mesmos e agregando valor aos resíduos lignocelulósicos gerados por outros setores agrícolas. O gênero *Pleurotus* sp, tem a habilidade de colonizar e degradar uma grande variedade desses resíduos em ambientes rústicos de produção (ALMEIDA *et al.*, 2019); 3) os cogumelos comestíveis possuem menores efeitos nocivos à saúde pois para sua produção não são permitidos insumos agrícolas tóxicos, fato que os torna alimentos seguros para o consumo em contraposição a outros produtos agropecuários que utilizam quantidades excessivas ou não permitidas de agrotóxicos, insumos químicos e drogas veterinárias. 4) Além do mais, alimentos elaborados com plantas e fungos comestíveis reduzem drasticamente a transmissão de doenças zoonóticas, muitas delas transmitidas por peixes produzidos em condições de higiene e transporte insalubres. Os peixes de cativeiro são uma fonte crescente de alimento e de empregos, setor apoiado por muitos governos, no entanto, também apresentam riscos ambientais e de saúde pública. A ração rica em gorduras, o uso abusivo de antibióticos, assim como, os rejeitos na produção de peixes e outros frutos do mar cultivados contaminam o meio ambiente chegam também às pessoas ao consumi-los. Os peixes em cativeiro são tratados com altas doses de antibióticos, induzindo à mutação e resistência de

bactérias a estes, gerando assim graves problemas de saúde pública (RFI, 2013); 5). Existe também a fuga de peixes de espécies cultivadas não nativas dos tanques para os rios e mares o que provoca adaptações e competição com a população de peixes nativos pelo habitat, diminuindo e até mesmo extinguindo a mesma. A exemplo disso, a tilápia, peixe originário da África, já se encontra vivendo livre em diversos rios brasileiros. O salmão é outro caso, de peixe não nativo, mas cultivado em escala industrial no Chile, causando já notórios impactos ambientais na vida aquática do oceano pacífico sul (RFI, 2013). 5) A contaminação de peixes e frutos do mar por metais pesados e microplásticos é um problema ambiental grave que pode afetar a saúde humana (LOBO, 2011). O contato com substâncias tóxicas como o mercúrio, chumbo, arsênio e cádmio, provenientes da poluição industrial, efluentes domésticos e industriais, o descarte inadequado de resíduos e insumos químicos, a pesca excessiva, substâncias químicas de pesticidas e fungicidas utilizados na agricultura e rejeitos da exploração mineral são as principais fontes de metais para o sistema aquático, pode provocar sérios problemas, como disfunções do sistema nervoso e aumento da incidência de câncer (LIMA *et al.*, 2015). Segundo Lima *et al* (2015), elevados teores de metais pesados diluídos nas águas causam altos acúmulos na vida aquática, por exemplo nos peixes, pois estes absorvem tanto os metais essenciais, quanto os não essenciais, a partir da água e pela ingestão de alimento, retendo-os em seu tecido muscular. Os microplásticos são pequenas partículas geradas pela degradação de materiais plásticos de tamanhos maiores que variam de 0,0001 a 5 mm de espessura e que podem ser encontradas em diversos produtos, incluindo cosméticos, roupas e embalagens. Essas micropartículas são o resultado da superprodução e do descarte incorreto de plástico nas últimas décadas. Quando descartadas no meio ambiente, chegam aos rios e oceanos e pela cadeia trófica terminam sendo ingeridos pelos peixes, que por sua vez são consumidos pelos seres humanos, por isso, são considerados grandes poluentes dos ambientes marinhos (DANTAS *et al.*, 2020).

Com os argumentos acima, além, da crescente demanda por produtos feitos com proteínas alternativas às de origem animal, que sejam de fácil preparo e que atendam públicos veganos e flexitarianos, justifica-se a importância de pesquisas para o desenvolvimento de produtos análogos feitos à base de plantas, biomassa microbiana (como fungos e bactérias comestíveis), algas, entre outros, utilizando técnicas como a fermentação, texturização, entre outras. Além disso, o processamento eficiente desses alimentos não só garante aos produtores um aumento na renda, mas também permite o aproveitamento de excedentes de produção, minimizando as perdas (BRASIL, 2018).

Neste trabalho, foi escolhido o cogumelo do gênero *Pleurotus spp* devido à sua disponibilidade na região de Lavras, sua coloração, formato, produção orgânica e custo comercial.

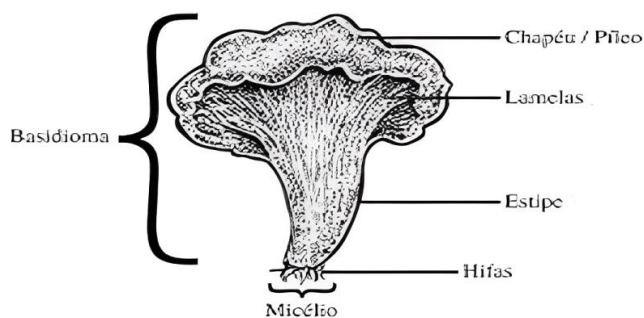
2.3.1 *Pleurotus spp*

Os fungos do gênero *Pleurotus spp* são saprotróficos comuns de ecossistemas florestais, pertencentes à classe dos *agaricomycetes*. Esse gênero abriga cerca de 40 espécies de cogumelos, todas comestíveis. Segundo Machado (2016), são conhecidos como fungos da podridão branca por biodegradarem lignina. São capazes ainda de clivar celulose, hemicelulose e lignina da madeira, enquanto os fungos da podridão parda clivam apenas celulose e hemicelulose. Destacam-se ainda por serem de rápido e fácil cultivo e por além do rápido crescimento, serem capazes de colonizar substratos de baixo custo, como troncos de árvores, palhas de cereais e outros resíduos agrícolas (DIAS, 2010).

Os fungos basidiomicetos, usam celulose e hemicelulose como substrato e em metabolismo secundário, quando em escassez de nutrientes ou situações de estresse, degradam lignina, através de um processo aeróbio oxidativo aos grupos fenóis, alifáticos e metóxidos que resulta na despolimerização da lignina. Nesses fungos, as lacases extracelulares são produzidas constitutivamente em pequenas quantidades e as enzimas lignocelulolíticas são afetadas por muitos fatores de fermentação típicos, como composição do meio, pH, temperatura e taxa de aeração (SILVA *et al.*, 2012).

O gênero *Pleurotus*, comumente referido como cogumelo ostra, é o segundo fungo comestível mais cultivado em todo o mundo (SEKAN, *et al.*, 2019). Além de muito apreciado por seu sabor característico, o que o encaixa na alimentação gourmet, é caracterizado por seu considerável teor protéico e por sua fração de carboidratos não-amiláceos, além da sua composição de fibra dietética, destacando as β -glucanas, que são, constituintes de fibras dietéticas capazes de diminuir os níveis de colesterol e resposta glicêmica no sangue. Pontua-se também sua fração de minerais, vitamina B e por apresentar baixo teor de gordura (CHANG; MILES, 2004).

Figura 1. Representação estrutural *Pleurotus*



Fonte: Gonçalves; Casalvara (2020).

A composição proteica é de extrema importância nos cogumelos e varia de acordo com o substrato usado no cultivo, com o estágio de desenvolvimento do basidioma, com a época de colheita e com a espécie do gênero *Pleurotus* que está sendo cultivada. No entanto, geralmente, para o gênero em questão, essa fração varia de 25,6 a 44,3% de proteína bruta, em base seca (SILVA *et al.*, 2007).

2.3.1.1 *Pleurotus ostreatus*

P. ostreatus é uma espécie de cogumelo de alta influência econômica. Popularmente nomeado como shimeji-preto, cogumelo ostra, cogumelo gigante ou caetetuba, possui variedades que vão do branco ao cinza ou do marrom ao castanho-escuro. É amplamente consumido por seu sabor característico agradável e por sua notável composição nutricional (CARVALHO *et al.*, 2012).

O significativo teor de minerais, fibras, vitaminas, aminoácidos, antioxidantes, imunoestimulantes e antimicrobianos e o reduzido teor lipídico, destacam a viabilidade nutricional e funcional do *P. ostreatus* (PAZZA *et al.*, 2019). No entanto, a composição nutricional pode variar de acordo com o substrato utilizado no cultivo, método de compostagem, idade ou maturidade do corpo de frutificação (PEDRA *et al.*, 2009).

Figura 2. *P. ostreatus*

Fonte: Fungicultura, 2022.

2.4 Tratamento térmico de cogumelos

No estágio de pós-colheita têm-se uma perda na qualidade em todos os aspectos sensoriais, químicos e físicos dos cogumelos, como a redução da umidade, caracterizando perda de peso contínua, de compostos nutricionais e surgimento de sabor desagradável, o que resulta na recusa de compra por parte dos consumidores. Os pré-tratamentos, devem realizar a manutenção de mudanças internas e externas dos cogumelos. Os processos vão de atmosfera modificada, de ordem física como a irradiação a lavagens com agentes químicos antimicrobianos que diminuem a atividade enzimática do alimento (ZHANG; PU; SUN, 2018).

Os usos de pré- tratamentos em cogumelos são realizados para que os mesmos mantenham suas características e propriedades sensoriais intactas ou com a menor alteração possível, sem que sofram uma deterioração rápida. Aqueles que são submetidos a processamentos mínimos como os que envolvem temperatura ou processos osmóticos, uso de enzimas, entre outros, mantêm as características estruturais, mecânicas e suas propriedades tecnológicas (MEHTA, 2013).

Os tratamentos térmicos em cogumelos têm como objetivo retirar ou diminuir a carga microbiana natural de bactérias produtoras de compostos tóxicos e de fungos que podem inviabilizar o uso desta matéria-prima e que estão amplamente envolvidos de forma associativa e sinérgica (RONCERO-RAMOS *et al.*, 2017).

Segundo Cardwell (2018) os cogumelos apresentam alto valor em carboidratos, conteúdo considerável de proteínas e ácidos graxos, vitaminas do complexo B, que podem ser perdidas ou alterados durante a etapa de pré-tratamento.

Outros compostos que devem ter atenção em seu conteúdo inicial e final, dentro do processo de conservação utilizado em cogumelos, são os da classe de sesquiterpenos, alcalóides, lactonas e esteróis, e também glicoproteínas e agentes quelantes de metais. Todos esses são formadores de cadeia de alto poder antioxidante (Valverde *et al.*, 2015).

Vunduk (2018) reporta em seu trabalho que a composição centesimal, em condições naturais e sem tratamento mínimo adequado em cogumelos de coloração branca, varia com o tempo e a temperatura, também foi visto que a atmosfera da embalagem contribui para a perda da textura.

Da integridade e manutenção do corpo cárneo de cogumelos, de maneira ampla o uso de cloreto de cálcio é visto de maneira positiva, uma vez que o amolecimento é ponto primordial na perda de características sensoriais necessárias para o uso dos cogumelos em formulações que empregam a textura como ponto chave de sua aceitação (HAN LYN *et al.*, 2020). Bezerra (2020), em seu trabalho reporta que o cloreto age sobre as reações responsáveis pela taxa respiratória dos frutos, aumentando a vida útil dos mesmos.

A cor é outro parâmetro usado para avaliar a qualidade dos alimentos e pode ser afetada por injúria mecânica, armazenamento ou procedimentos de processamento devido à atividade de enzimas como tirosinase, polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) e ainda por metabólitos secundários como fenóis e ácido ascórbico (FORTEA *et al.*, 2009; MANJARI e CHANDRA, 2021; TSIKRIKA *et al.*, 2022).

O pré-tratamento possibilita que a qualidade do alimento fresco seja mantida dentro de sua cadeia produtiva. Alguns dos tratamentos térmicos emergentes nas indústrias de alimentos, para paralisação de reações bio vitais de microrganismos, em matérias primas que sofrem com problemas de deterioração acelerada, é a técnica Sous vide, que usa de embalagem a vácuo, colocadas em contato com temperaturas abaixo de 100°C, com o binômio tempo e temperatura controlados e posteriormente refrigerados rapidamente para aproximadamente 3°C. Esse tipo de tratamento ajuda no controle entre produção e armazenamento. Dos tratamentos culinários habituais, é relatado que aspectos de luminosidade, gomosidade e mastigabilidade são diminuídos pela ação do calor sobre as estruturas fúngicas (TOCHETTO, 2018; GARCÍA *et al.*, 2021).

2.4.1 Enzimas Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (POD)

As enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidases (POD), comumente estão associadas a parâmetros de qualidade de alimentos frescos, como frutas e vegetais. Cogumelos possuem

essas enzimas em sua composição, que em condições favoráveis para a sua ativação causam alterações indesejáveis principalmente de cor, textura e sabor dos mesmos (FORTEA *et al.*, 2009; MANJARI e CHANDRA, 2021; TSIKRIKA *et al.*, 2022). O processo de pós colheita desses alimentos, é um ponto crítico para comercialização dos cogumelos, devido às possíveis injúrias causadas no produto durante o transporte e armazenamento, ocasionando uma sequência de reações enzimáticas, responsáveis por alterações físicas e sensoriais do alimento (CHENG; ZHANG; ADHIKARI, 2013; CHENG *et al.*, 2013).

PPO e POD são enzimas denominadas como oxirredutoras, no qual as polifenoloxidasas utilizam substratos de base fenólica em suas reações e as peroxidases, que utilizam peróxido de hidrogênio como co-substrato, catalisam além de substratos fenólicos, ácidos orgânicos, vitaminas, lipídios e clorofila. Dependendo do tipo de substrato utilizado, as PPO podem ser classificadas com base nas reações de oxidação que convertem monofenóis em difenóis ou fenóis em quinonas. As quinonas são substâncias com capacidade de interagir entre si e com constituintes orgânicos quando expostas a oxigênio, produzindo compostos de coloração escura (melanoidinas) característicos desse tipo de reação (YORUK; MARSHALL, 2003; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A POD atua na oxidação de substâncias que resultam em cores vibrantes e pode catalisar reações de biodegradação. Além disso, é comumente utilizada por diversas indústrias alimentícias como um indicador de branqueamento, pois geralmente mantém sua atividade quando exposta ao calor (LUÍZ; HIRATA; CLEMENTE, 2007).

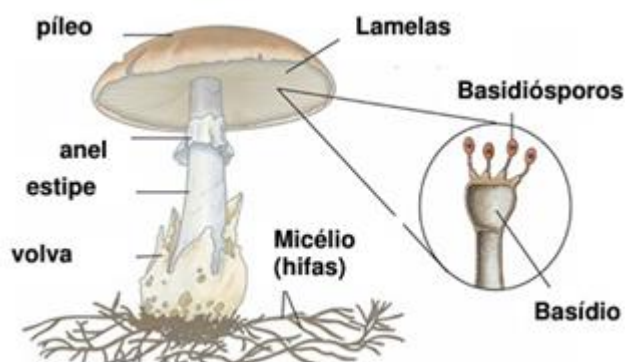
A inativação das enzimas causadoras de escurecimento enzimático, pode ocorrer por meio do controle de parâmetros como temperatura, pH, força iônica, agentes oxidantes ou redutores, radiação e agentes desnaturantes. No geral, as temperaturas ideais de inativação variam para cada uma das enzimas e dependendo da condição de aplicação do binômio tempo e temperatura e do tipo de alimento analisado, a inativação total das enzimas pode acontecer entre 90 e 100 °C para POD e entre 60 e 80°C para PPO (MIZOBUTSI *et al.*, 2010).

2.5 Comparação entre a estrutura de cogumelos e o tecido muscular de peixes

A estrutura do cogumelo é formada principalmente pela estipe e pelo píleo (FIGURA 3). O píleo, comumente chamado de chapéu, apresenta uma grande diversidade de formas, cores e texturas de superfície. O himênio, localizado na parte inferior do píleo, pode ter uma estrutura lamelar ou poroide, sendo responsável pela produção de esporos pelos basídios (PEGLER; SPOONER, 1994; URBEN *et al.*, 2004). Os basídios são células especializadas que produzem

os basidiosporos, os quais são encontrados nas lamelas ou nos poros do cogumelo. A presença ou ausência de certas estruturas, como os grampos de conexão, tem importância na classificação taxonômica dos Agaricales (SINGER, 1975). As hifas, filamentos que compõem o micélio dos fungos, podem ser generativas ou dicarióticas, estas últimas com grampos de conexão em alguns gêneros (FIDALGO; FIDALGO, 1967).

Figura 3. Morfologia do cogumelo



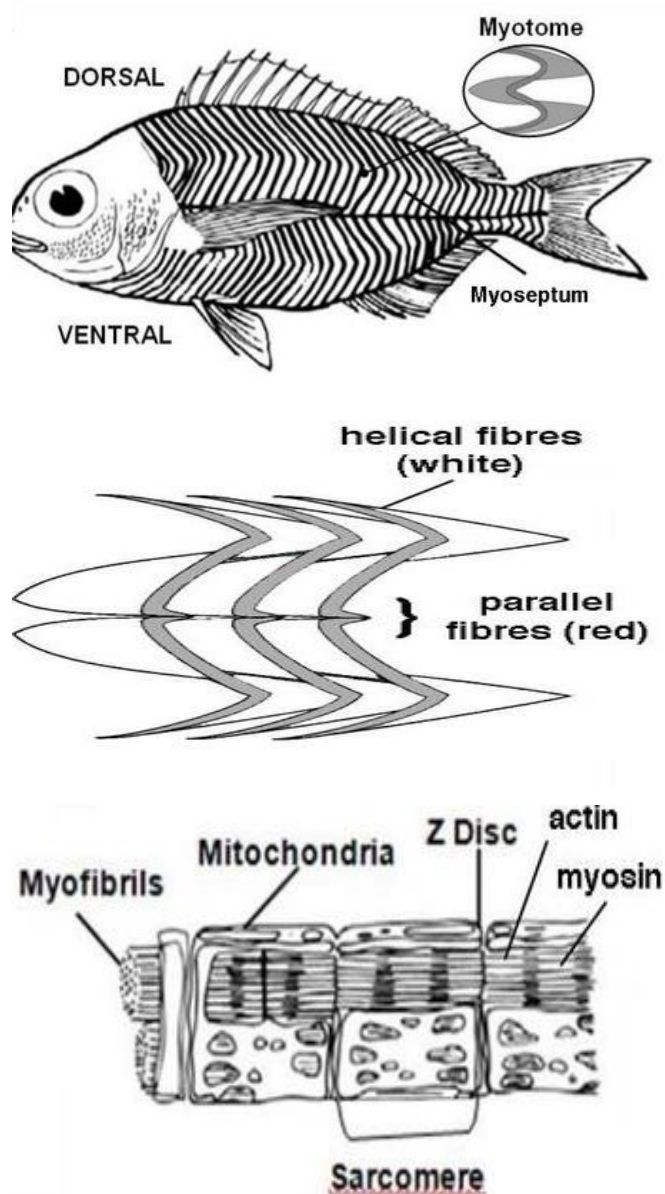
Fonte: Komura (2009).

A musculatura dos peixes compreende três grupos principais de músculos estriados: os da cabeça, do corpo e das aletas. Os músculos do corpo, situados bilateralmente ao longo da espinha vertebral, organizam-se em quatro músculos longitudinais, dois dorsais e dois ventrais, separados por tecido conjuntivo resistente. Essa organização é crucial para a movimentação e estabilidade do peixe durante sua locomoção (SIKORSKI, 1990).

A fisiologia muscular dos peixes, embora similar à dos mamíferos, apresenta diferenças notáveis, especialmente no comprimento das fibras musculares e na inserção na miosepta. O tecido muscular, predominantemente estriado, é composto por fibras musculares envoltas pelo sarcolema, assim como nos mamíferos. No entanto, nos peixes, há uma distinção entre dois tipos de tecido muscular: claro e escuro, sendo predominante o claro. Essa variação pode influenciar diretamente a textura e o sabor da carne do peixe (HYLDIG *et al.*, 2007).

Além disso, é importante considerar o papel dos miótomos (FIGURA 4) na fisiologia muscular dos peixes. Originados do mesoderma segmentar dos embriões de vertebrados, os miótomos desempenham uma função fundamental na formação e funcionamento da musculatura do corpo dos peixes, contribuindo para sua estruturação e coordenação de movimentos. Essa complexidade anatômica reflete-se na diversidade morfológica e funcional da musculatura dos peixes, destacando sua adaptação ao ambiente aquático e às demandas específicas de cada espécie (SIKORSKI, 1990).

Figura 4. Fisiologia da tilápia



Fonte: Adaptado de ROSSI; TURKO; WRIGHT (2018).

A carne é definida como músculos esqueléticos considerados próprios para consumo, que na maioria das vezes apresentam estrutura heterogênea por serem constituídos por diversos tipos de fibras musculares dispostas em feixes.

Um elemento importante dos músculos esqueléticos é o tecido conjuntivo intramuscular, que forma a estrutura do tecido conjuntivo dos músculos. A morfologia, composição e quantidade de tecido conjuntivo intramuscular diferem significativamente entre espécies, raças, sexo, idade e tipo muscular dos animais (PURSLOW, 2005).

Estudos provam claramente que o conteúdo de tecido conjuntivo intramuscular afeta a qualidade da carne e dos produtos cárneos, incluindo parâmetros sensoriais da carne, como textura (maciez e dureza) e suculência (ASTRUC, 2014; PURSLOW, 2005).

O tecido conjuntivo intramuscular constitui uma pequena porcentagem da massa muscular total, mas sua quantidade, composição e distribuição causam as mais variáveis diferenças fenotípicas entre os músculos das carcaças de animais (PURSLOW, 2002).

O tecido conjuntivo intramuscular é formado por moléculas que podem ser divididas em três classes principais: colágenos, proteoglicanos e glicoproteínas. O conteúdo tecido conjuntivo intramuscular é determinado com base na quantidade de colágeno, que constitui mais de 95% de todas as proteínas do tecido conjuntivo dos músculos esqueléticos (PURSLOW, 2002).

O colágeno, como principal proteína tecido conjuntivo intramuscular, desempenha um papel especial nos músculos dos animais, que é fornecer às estruturas dos tecidos resistência mecânica adequada. Entre os vários tipos genéticos de colágeno, uma parte significativa dele nos músculos esqueléticos é do tipo I (70-80%) e do tipo III (10-20%) (10), em comparação com o colágeno dos tipos IV, V, VI, XII, XIV, XV e XIX, que se encontra em pequena quantidade, não ultrapassando 1% (VOERMANS *et al.*, 2008). Os tipos I e III são os principais tipos formadores de fibras no endomísio, perimísio e epimísio, e o colágeno tipo IV é o principal componente não formador de fibras da membrana basal que liga a camada fibrosa (reticular) do endomísio à membrana da célula muscular (sarcolema). Nas espécies de mamíferos, o tipo V é um componente menor do tecido conjuntivo intramuscular, embora seja muito mais abundante na principal estrutura do tecido conjuntivo intramuscular do músculo dos peixes, os miocomas (SATO *et al.*, 1998).

Segundo Boin (2015), os cogumelos têm sido amplamente usados dentro da alimentação humana, principalmente pela suavidade no sabor e sua textura diversa e agradável. Os cogumelos, salvo exceções, geralmente não são consumidos sem antes passarem por um processo mínimo de cozimento. Essa prática auxilia na palatabilidade do corpo de frutificação e em sua aceitação, e na digestão, bem como na absorção dos nutrientes. As cocções em altas temperaturas modificam o tecido interno, assim este pode sofrer uma série de mudanças em seus compostos bioativos, de acordo com Reid e seus colaboradores (2016).

A escolha do método de cozimento ou tratamento culinário pode se tornar peça chave para a aceitação e a caracterização nutricional, principalmente no aspecto antioxidante (NG;

TAN, 2017). Segundo Singh, *et al.* (2014), há pouca informação sobre alterações nas propriedades de cogumelos, em todos os aspectos.

A exposição das características de textura dos peixes tilápia e salmão e dos cogumelos *P. ostreatus* e *P. djamor* está disposto na Tabela 2.

Tabela 1. Atributos de textura dos peixes salmão e tilápia e dos cogumelos *P. ostreatus* e *P. djamor*

Atributos de textura	
Salmão sem pele, fresco e cru	Aspecto coesivo proeminente, macia, mediana maleabilidade (resistência) (MERLO, 2017).
Filé de tilápia sem pele, fresco e cru	Aspecto molhado (suculento), baixa firmeza (BLAND <i>et al.</i> , 2018).
<i>P. ostreatus</i> desidratado	Gomosidade intermediária, mastigabilidade relativamente fácil, sem perda da característica de resistência do corpo cárneo (VASCONCELOS, 2021).
<i>P. ostreatus</i> cru	Estrutura fibrosa, pouco maleável, com rigidez acentuada (ESPINOSA-PÁEZ <i>et al.</i> , 2021).

Fonte: MERLO, 2017; BLAND *et al.*, 2018; VASCONCELOS, 2021; ESPINOSA-PAEZ *et al.*, 2021.

2.6 Comparação entre a composição dos cogumelos e a de peixes

O aparecimento de doenças crônicas e de origem nas disfunções do organismo ou nos sistemas, como as cardiovasculares, apresentam-se diretamente relacionadas a composição da alimentação humana e pode estar associada ao consumo exagerado de produtos de origem animal, e sua composição de macros e micronutrientes proeminentes como o teor de gordura e sais minerais (GONZÁLEZ *et al.*, 2021). O aproveitamento de outras fontes de proteínas tem sido objeto de estudo, sendo as de origem vegetal como principal aliado na melhora da alimentação humana de acordo com Sá, Moreno e Carciofi (2020). Os autores ainda relatam que alimentos de origem vegetal tem uso limitado dentro de sua utilização uma vez que aminoácidos essenciais, são encontrados em menor teor, como aqueles de cadeia sulfurosa ramificada.

Algumas alternativas são estudadas para o desenvolvimento de análogos com o objetivo de obtenção de composição nutricional semelhante aos alimentos de origem animal. Proteínas de origem microbiana também tem sido usadas na elaboração de análogos (BACH *et al.*, 2017). Neste contexto, os cogumelos que apresentam características favoráveis ao consumo, como nenhuma toxicidade e composição proteica (AZEVEDO *et al.*, 2014).

Do ponto de vista tecnológico, os cogumelos sofrem leves mudanças quanto a composição e pH após tratamentos térmicos brandos, como branqueamento. Em relação a textura sofrem mudanças significativas como encolhimento, perda de massa, propriedades de elasticidade, pontos a serem considerados para seu uso como matéria-prima nos diversos preparos e produtos (KURT; GENÇCELEP, 2018).

O reconhecimento nutricional dos cogumelos se dá, pois, os mesmos possuem como característica baixo valor calórico, alto teor de fibras, baixa gordura e teor proteico considerável, variando entre 20 e 38% no material seco, sendo que em sua composição encontram-se presentes a maioria dos aminoácidos essenciais, importantes para a formação de tecidos do corpo. Possuem também outros compostos de interesse, como as glucanas, quitinas e glicoproteínas, para a indústria de alimentos (MENEZES, 2014). Os polissacarídeos à base de quitina e β -glicose não podem ser digeridos e absorvidos no intestino humano, sendo fibras insolúveis com efeitos prebióticos e a extração desses polissacarídeos tem sido empregada para desenvolvimentos de colágeno vegano (SONI *et al.*, 2023).

A esse conjunto de compostos são atribuídas também propriedades anti carcinogênicas, anti-inflamatórias, imunomoduladoras, antivirais e hipoglicemiantes (RATHORE, 2017).

Os benefícios do consumo de cogumelos se devem à grande variedade de componentes bioativos presentes, como terpenos, estatinas, polissacarídeos, carotenóides, dentre outros, que auxiliam na performance e melhoria dos processos metabólicos e manutenção dos órgãos, como a diminuição da gordura corporal, manutenção enzimática e produção hormonal (CARRASCO-GONZÁLEZ; SERNA-SALDÍVAR; GUTIÉRREZ- URIBE, 2017). Um trabalho de 2021, usou biomassa fúngica a partir do uso de cogumelos da espécie *Pleurotus albidus*, para prospecção de uma farinha, composta por proteínas fúngicas, enriquecidas com compostos ativos, pelo manejo de produção dos cogumelos usados no estudo. O micélio usado no estudo também foi caracterizado com quitina e glucanos que como fibras alimentares e por terem ácidos graxos de grande cadeia, trazem um conjunto de benefícios ao funcionamento do sistema endócrino do corpo humano (STOFFEL *et al.*, 2021).

No aspecto inovador a busca por novos nichos de mercados, os cogumelos se mostram interessantes, pois apresentam em sua composição substâncias bioativas que auxiliam em processos de desintoxicação. Outro ponto importante é que em dietas vegetarianas, os cogumelos podem ser fonte de vitamina D (CARDWELL *et al.*, 2018). Dos cogumelos comestíveis, todos mostram um teor proteico essencial para que sejam usados na substituição da proteína animal (YU *et al.*, 2021). Segundo Tavares (2015), o preparado de cogumelos pode

conter cerca de 9% de proteína, contra aproximadamente de 20% de teor proteico de carnes de tilápia e salmão.

2.7 Perfil sensorial de cogumelos comestíveis e de peixes

Os parâmetros que são usados para a avaliação sensorial de cogumelos e preparo com biomassa de cogumelos avaliam o odor, sabor e a textura, sendo esta última analisada tanto visualmente, quanto sensorialmente, em função da classificação global. Ainda é reportado que os cogumelos podem apresentar um sabor de fruta, ou algum aspecto que remete a frutas, por conta dos compostos presentes em cada um (LOU *et al*, 2021).

De acordo com Li *et al.* (2019), os açúcares presentes no corpo dos cogumelos, realçam a percepção do gosto doce. Os açúcares de maior teor, são conhecidos por maltose, frutose e manitol, em sua análise por meio da solubilização. Outro ponto relatado em literatura sobre o processamento de biomassa a base de cogumelos é que o cozimento melhora o teor de sólidos solúveis, uma vez que o aquecimento faz com que as reações da liberação de açúcares redutores seja maior, principalmente a outras tecnologias que possam ser empregadas para o mesmo objetivo (WANG, 2018).

A junção do sabor e aroma dos cogumelos é importante para a aceitação dos produtos alimentícios que utilizam esse tipo de matéria-prima em sua classificação e aceitação global. O sabor por sua vez torna-se o aspecto sensorial de maior importância, uma vez que por meio de provadores inexperientes a textura dos cogumelos em si e de produtos a base de cogumelos pode se sobressair e podem causar a não aceitação (HOU *et al.*, 2021).

O manejo dos peixes em todas as fases de sua vida exerce papel fundamental na análise sensorial dos produtos que são obtidos a partir deles. O sexo, a espécie e a idade podem influenciar de forma considerável, principalmente após a morte. Em peixes de água doce, sinais de aparecimento de cor branca intensa na carne e outras características são mais relevantes, pois demonstram contaminação externa ou do meio de criação (SAOWAKOON, 2021). Um dos processos de maior impacto na produção de animais para o abate, para obtenção de carne de pescado é sem dúvidas o processo de depuração dos tanques de pré-abate, uma vez que esta prática pode retirar metabólitos presentes que contribuem para a deterioração rápida e gosto amargo nas carnes (RODRIGUES, 2017).

As características sensoriais e nutricionais de um alimento, são de extrema importância para a viabilidade e sucesso do produto nas gôndolas de venda, em destaque quando se trata de um novo produto, pois, apesar da crescente busca por alimentos saudáveis e funcionais o

consumidor não abre mão das características conhecidas dos produtos de referência (COSTA *et al.*, 2012).

Os cogumelos comestíveis apresentam uma ampla variedade de sabores, odores, propriedades quimiossensoriais e texturais características e de fácil distinção. Os determinantes atributos de sabor dos cogumelos, como notas frutadas e terrosas, provêm de compostos C8 alifáticos e são resultantes de uma ampla variedade de compostos voláteis e não voláteis, conhecendo-se o 1-octen-3-ol e 1-octen-3-ona, respectivos responsáveis pelo aroma e odor dos cogumelos (ZHANG *et al.*, 2018).

Outros odores identificáveis dos cogumelos comestíveis são causados por compostos, como, 3- (metiltio) propanal, terpenóides e compostos N-heterocíclicos, produtos da degradação de diversos ácidos graxos. Quanto aos componentes não voláteis, convencionalmente quantificados através de análise cromatográfica, o sabor dos cogumelos é gerado por aminoácidos e nucleotídeos livres, além de vários outros compostos, como ácidos orgânicos, açúcares solúveis e polióis (AISALA *et al.*, 2020).

Os aminoácidos livres e 5'-nucleotídeos, são os compostos responsáveis por conferir os sabores característicos e o gosto umami, sabor básico tipificado pelo aminoácido ácido glutâmico e seu sal glutamato monossódico, em cogumelos e podem ser analisados através de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC (PHAT; MOON; LEE, 2016).

Apesar de diversos estudos terem avaliado os compostos voláteis e não voláteis que conferem sabor aos cogumelos, poucos deles avaliaram a relação existente entre os compostos encontrados com o perfil sensorial dos alimentos. Cho, *et al.* (2007) avaliaram cogumelos matsutake através de cromatografia-olfatometria gasosa e fizeram o estudo sensorial de 15 atributos através de um painel treinado e correlacionaram esses conjuntos de dados com um modelo multivariado e concluíram que o resultado mais notável foi que o sabor dos cogumelos diferiram claramente de acordo com a intensidade do composto avaliado.

Phat *et al.* (2016) analisaram os compostos responsáveis pela conferência do gosto umami através de HPLC e de avaliação sensorial por provadores humanos e por meio do uso de língua eletrônica, os autores mediram e compararam as correlações entre as avaliações sensoriais obtidas pela língua humana e pela eletrônica e concluíram que existem fortes correlações entre os níveis de concentração equivalente de umami e as notas sensoriais de gosto umami pontuados por ambas as línguas.

Em um estudo realizado com cogumelos comestíveis selvagens, foram analisados compostos voláteis e não voláteis através de ressonância magnética nuclear quantitativa e

avaliado o perfil sensorial através de análise com 84 consumidores que avaliaram aparência, odor, sabor, textura e gosto geral de amostras de cogumelos comestíveis. Foram criados modelos multivariados relacionando os compostos voláteis e não voláteis que contribuem com odores, atributos sensoriais e preferências hedônicas, com a obtenção de correlações entre a avaliação dos atributos sensoriais com os componentes químicos voláteis e não voláteis (AISALA *et al.*, 2020).

A aceitação sensorial de peixes, de forma geral, é positiva se as carcaças receberam tratamento adequado depois da morte do animal. O rigor mortis vem acompanhado do aumento de reações físico químicas, que produzem compostos da rancificação da gordura, e óleos principalmente em peixes de água fria, como o autêntico Bacalhau da Noruega. Os desenvolvimentos de trabalhos em análise sensorial se fazem importantes em pescados, para a quantificação dentro de toda a dinâmica da cadeia produtiva, dos teores de minerais, como cálcio, fósforo ferro e cobre e a perda de vitaminas lipossolúveis (GURGEL; SOUZA; PIRES, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2013).

Na literatura, é relatado que a carne de pescado apresenta boa aceitação por ser uma carne de sabor diferenciado, o que é justificado pela baixa presença de gordura insaturada, conteúdo apreciável de ácidos graxos ômega 3 e teor de proteínas favorável. Os parâmetros avaliados em pescados, são influenciados por preferências regionais e hábitos alimentares diferentes dentro das regiões do Brasil. Ainda vale ressaltar que pela extensão territorial do Brasil, há uma diferença no consumo de peixes nas regiões interioranas, influenciadas pelos preços de venda e conveniência (FREITAS; MATTIETTO, 2020).

Os consumidores de carne de pescado, mostram em análises sensoriais que possuem uma expectativa para que as características da carne fresca sejam encontradas em produtos feitos a partir desta matéria-prima ou de análogos. Essas propriedades se resumem em sabor, odor, aparência e maleabilidade da carne (ABP, 2019).

2.8 Fermentação semi-sólida usando cogumelos comestíveis e bactérias ácido lácticas produtoras de exopolissacarídeos

As cepas de bactérias ácido lácticas são capazes de transformar os carboidratos presentes no meio, em ácidos orgânicos e voláteis, conferindo ação bactericida ao meio, o que inibe o aparecimento de características indesejáveis. Essas propriedades físico-químicas podem ser adquiridas pelos alimentos através de sua microbiota natural ou com a adição de culturas desejadas ao meio (GONÇALVES; ABREU; RAMOS, 2021).

Os EPS, metabólitos produzidos por algumas bactérias lácticas, podem, segundo Asadi e seus coautores (2021), ter sua produção afetada pelo tamanho do inóculo, quantidade de ácido ou outros compostos produzidos durante a fermentação que ocasionam a alteração do pH e pela agitação usada na fermentação. O estudo destaca ainda que a submersão da cultura usada para a fermentação e produção de EPS é mais vantajosa e apresenta melhor rendimento (STEPHENS. *et al.*, 2019).

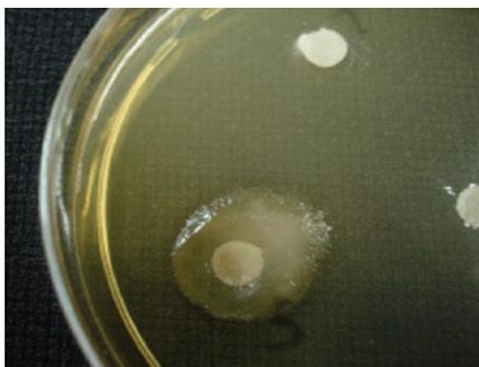
Ressalta-se ainda que existem poucos estudos que relatam as condições da produção destes compostos a partir de biomassa de cogumelos, por meio de fermentação, (DEVECI; TARAKÇI, 2019).

O *Leuconostoc pseudomesenteroides* (LP) é uma bactéria láctica gram-positiva, não esporulante, encontrada na forma de cocos, em pares ou em cadeias. São mesófilas com crescimento ótimo entre 18°C e 25°C, pH entre 5,5 e 7,5 e anaeróbias facultativas, com melhor crescimento em ausência de oxigênio. São heterofermentativas e podem ser isoladas de alimentos fermentados, como chucrute, pickles, queijos, salame, iogurtes e kefir (CAMPBELL, 1996; SÄDE, 2011). Além disso, são produtoras de exopolissacarídeos (EPS), com quantificações variáveis entre 0,4 e 4,37 g/L dependendo do enriquecimento usado, concentração aplicada e método fermentativo escolhido (HONORATO *et al.*, 2007; YÁÑEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2021). E possuem condições específicas para produção de EPS, incluindo pH de 8,2, incubação a 28°C por 30 horas, sem aeração e com enriquecimento de sacarose (10,7%) (PAULO *et al.*, 2012a).

A *Weissella cibaria* é uma bactéria láctica gram-positiva não esporulante, que se apresenta na forma de cocos, classificada como anaeróbia facultativa, mesófila, apresenta temperatura ótima de crescimento entre 25°C e 37°C, pH entre 4,5 e 6,5. Pode ser isolada de alimentos fermentados como, lácteos, vegetais, carnes e produtos de panificação (YILMAZ, 2022). Quando submetida a condição de 37°C por 24h, pH 6, com enriquecimento de sacarose (20%) é capaz de produzir EPS em concentrações que podem variar com o tipo de enriquecimento e método fermentativo de 0,001 a 7,4 g/L (BESROUR-AOUAM *et al.*, 2021; LLAMAS-ARRIBA *et al.*, 2021).

Os EPS produzidos por BAL, são responsáveis pela formação de colônias mucosas, viscosas e limosas em meio sólido (Figura 5) ou pela formação de longos filamentos quando a colônia é estendida com alça de inoculação (PAULO *et al.*, 2012b), por isso os EPS apresentam potencial para representar o tecido conjuntivo e/ou colagenoso no análogo desenvolvido.

Figura 5. Provável formação de EPS envolvendo a colônia de BAL



Fonte: PAULO *et al.*, (2012).

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados obtidos da presente pesquisa, elucidaram que o cogumelo de *P. ostreatus* pode ser utilizado como matéria-prima para o desenvolvimento de alimentos *plant-based*, que apresentaram bons resultados de cor, textura e capacidade aderente. O uso dos cogumelos também se mostrou promissor, pois seu consumo e produção tem apresentado constante crescimento.

Os cogumelos comestíveis constituídos de fibras, minerais, vitaminas e proteínas têm ganhado espaço na alimentação do público restritivo em geral e pode ser um meio interessante para produção de exopolissacarídeos por fermentação semi-sólida.

Sendo assim, destaca-se a viabilidade da utilização dos cogumelos hiratake, para o desenvolvimento de novos alimentos *plant-based*, com o intuito de reduzir perdas aos pequenos produtores, estimular as modificações no perfil do consumidor e agregar valor ao alimento.

REFERÊNCIAS

- ABP - Associação Brasileira da Piscicultura. **Anuário de Piscicultura Brasileira**. Edição, 2019.
- AISALA, H.; *et al.* Linking volatile and non-volatile compounds to sensory profiles and consumer liking of wild edible Nordic mushrooms. **Food Chemistry**, 2020. v. 304, p.125403. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619315171>>. Acesso em: 21 dez. 2023.
- ALMEIDA, *et al.* **Agroecologia: debates sobre a sustentabilidade** /Organizador Cleberton Correia Santos. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019.
- ANDRADE, J. P. *et al.* Produção de exopolissacarídeos utilizando fungos filamentosos. **Cadernos de Prospecção**, 2015, v. 8, n. 2, p. 311-318. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/11624/pdf_108>. Acesso em: 17 mar. 2022.
- ANDREANI, G. *et al.* Plant-Based Meat Alternatives: Technological, Nutritional, Environmental, Market, and Social Challenges and Opportunities. **Nutrients**, 2023, v. 15, n. 2, p. 452. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6643/15/2/452>>. Acesso em: 05 dez. 2024.
- ANPC - Associação Nacional de Produtores de Cogumelos. **O setor de cogumelos**. 2018. Disponível em: <<https://www.anpccogumelos.org/cogumelos>>. Acesso em: 30 jan. 2024.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos plant based: Relatório das oficinas virtuais para identificação do problema regulatório e dos agentes afetados**. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/ptbr/assuntos/noticias-121-anvisa/2022/Relatoriodasoficinasparaidentificacaodoproblemaregulatorio150922.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2024.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2021. **Oficina regulatória: Análise e identificação de problemas – Produtos “plant-based”**. Gerência-Geral de Alimentos – GGALI, 2021, 16 p. Disponível em:<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/Oficina_problemaregulatorioPlantBased.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2022.

ASADI, F. *et al.*, 2021. Enhancement of exopolysaccharide production from *Ganoderma lucidum* using a novel submerged volatile co-culture system. **Fungal biology**, v. 125, n. 1, p.25–31. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1878614620301501>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

ASTRUC, T. Connective tissue: structure, function, and influence on meat quality. **Encyclopedia of Meat Science**, v. 1, p. 321-328, 2014.

AZEVEDO, D. B. *et al.* The production chain of organic mushrooms: the case study of the cogumelos brasileiros company. **Revista de gestão ambiental e sustentabilidade**, 2014, v. 3, n. 1, p. 139. Disponível em: <<https://periodicos.uninove.br/geas/article/view/9846>>. Acesso em: 12 mai. 2022.

BACH, F. *et al.* Edible mushrooms: A potential source of essential amino acids, glucans and minerals. **International Journal of Food Science & Technology**, 2017, v. 52, n. 11, p. 2382-2392, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/ijfs.13522>>. Acesso em: 12 mai. 2022.

BARROS, K. S.; BIERHALS, I. O.; ASSUNÇÃO, M. C. F. Vegetarianismo entre ingressantes de uma universidade pública no sul do Brasil, 2018. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 2020, v. 29, n. 4, p. e2019378, 2020. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/ress/a/vgXY5Z3BWTYbnyVLr4Ww5Yj/#>>. Acesso em: 01 mai. 2022.

BESROUR-AOUAM, N. *et al.* The role of dextran production in the metabolic context of *Leuconostoc* and *Weissella* Tunisian strains. **Carbohydrate Polymers**, 2021, v. 253, p. 117254. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861720314272>>. Acesso em: 05 fev 2024.

BEZERRA, I. N. *et al.* Evolution of out-of-home food consumption in Brazil in 2008–2009 and 2017–2018. **Revista de Saúde Pública**, v. 55, p. 6s, 2021. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsp/a/trN3HQ9FG9MxpFXTSkCryyp/abstract/?lang=pt#>>. Acesso em: 03 abr. 2022.

BEZERRA, S. R. B. **Produção, qualidade e teores de nutrientes em sementes de alface com aplicação de cálcio e boro via foliar**. 2020. 57 f. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2020. Disponível em: < <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/192215> >. Acesso em: 16 mai. 2022.

BLAND, J. M. *et al.* Comparison of sensory and instrumental methods for the analysis of texture of cooked individually quick frozen and fresh-frozen catfish fillets. **Food Science & Nutrition**, 2018, v. 6, n. 6, p. 1692-1705, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/fsn3.737>. Acesso em: jun. 2022.

BOIN, E. A. S. F. **Aceitabilidade e caracterização sensorial de cogumelos *Pleurotus Eryngii* e *Hydum Repandum* e de um produto desenvolvido a partir de cogumelos**. 2015. Tese de Doutorado. Disponível em: < <https://comum.rcaap.pt/handle/10400.26/19390> >. Acesso em: 17 mai. 2022.

BRASIL. Câmara dos Deputados. **Perdas e desperdício de alimentos: estratégias para redução**. Recurso eletrônico/ relator Evair Vieira de Melo; consultores legislativos: Rodrigo Dolabella (coordenador), Marcus Peixoto, Alberto Pinheiro. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 2018. – (Série cadernos de trabalhos e debates; n. 3 e-book).

BRASIL. Câmara dos Deputados. **Projeto de Lei 508/2022**. Dispõe sobre a rotulagem de produtos alimentícios de origem vegetal que imitam produtos de origem animal. 2022a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamentação do mercado de *plant-based* para garantir concorrência justa**. 2022b. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-vai-regular-mercado-de-plant-based-para-garantir-concorrenca-justa>>. Acesso em: 12 jan. 2023.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria SDA/MAPA nº 831, de 28 de junho de 2023**. Submete à Consulta Pública a proposta de Portaria para estabelecer os requisitos mínimos de identidade e qualidade para produtos análogos de base vegetal, a identidade visual e as regras de rotulagem para esses produtos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 28 de junho de 2023. Seção 1, p. 3. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-sda/mapa-n-831-de-28-de-junho-de-2023-493518856>>. Acesso em: 08 dez. 2023.

CAMPBELL, I., PRIEST, F. G. **Brewing Microbiology**. Second edition, International center for brewing and distilling, Chapman & Hall, U.K, pp. 134-15, 1996.

CARDWELL G.; *et al.* A Review of Mushrooms as a Potential Source of Dietary Vitamin D. **Nutrients**, 2018, v. 10, n. 10, p.1498. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30322118/>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: potential use as food ingredient. **Journal Of Food Composition And Analysis**, 2017, v. 58, p. 69-81. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

CARVALHO, C. S. M. *et al.* Determinação bromatológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado em resíduos de diferentes cultivares de bananeira. **Interciência**, 2012. v. 37, n. 8, p. 621. Disponível em: <<https://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/1/20465/1/artigo-inpa.pdf>>. Acesso em: 01 mai. 2022.

CHANG, S. T.; MSHIGENI, K. E. **Mushroom farming: life-changing humble creatures**. Mkuki na Nyota Publishers. 2013. Dar es Salaam, Tanzania., 84 p.

CHANG, S.; MILES, G. P. **Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effects and Environmental Impact**. CRC Press. 2004. Boca Raton, FL. 452 p.

CHENG, J. *et al.* Texture and structure measurements and analyses for evaluation of fish and fillet freshness quality: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 52-61, 2013. Disponível em: <<https://ift-onlinelibrary-wiley.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1111/1541-4337.12043>>. Acesso em: 10 jan. 2024.

CHENG, X.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B. The inactivation kinetics of polyphenol oxidase in mushroom (*Agaricus bisporus*) during thermal and thermosonic treatments. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 2, p. 674-679, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1350417712002180>>. Acesso em: 10 jan. 2024.

CHO, I. H. *et al.* Differentiation of aroma characteristics of pine-mushrooms (*tricholoma matsutake sing*) of different grades using gas chromatography–olfactometry and sensory analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2007. v 55.6: 2323-328. Disponível em: <<https://pubs-acrs-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1021/jf062702z>>. Acesso em 30 abr. 2022.

COLLELA, C. F. *et al.* Potential utilization of spent *Agaricus bisporus* mushroom substrate for seedling production and organic fertilizer in tomato cultivation. **Ciência e Agrotecnologia**, 2019, v. 43, p. e017119. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cagro/a/SQMM3rwX7HQBf5zYmJ8cHwc/?lang=en#>>. Acesso em: 15 jan. 2024.

COSTA, A. L. *et al.* Produção do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatoroseus sing* a partir de serrapilheira de *Eucalyptus grandis* e *Pinus elliottii*. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, 2022, v. 12, n. 1, p. 164-173. Disponível em: <<https://periodicos.ufv.br/rbas/article/view/13837/7795>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

COSTA, G. N. S. *et al.* Desenvolvimento de iogurte sabor Juçará (*Euterpe Edulis Martius*): avaliação físico-química e sensorial. **Revista Eletrônica Teccen**, 2012. v 5.2: 43-58. Disponível em: <<http://editora.universidadedevasouras.edu.br/index.php/TECCEN/article/view/484>>. Acesso em 01 mai. 2022.

DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 5 2010. 900 p.

DANTAS, N. C. F. M. *et al.* Plastic intake does not depend on fish eating habits: Identification of microplastics in the stomach contents of fish on an urban beach in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 153, p. 110959, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110959>>. Acesso em: 1 fev. 2024.

DEKKERS, B. L., BOOM, R. M., GOOT, A. J. V. D. Structuring process for meat analogues. **Trends in Food Science & Technology**, 2018, v. 81, p. 25-36. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S092422441830311X?via%3Di>hub>. Acesso em: 15 mai. 2022.

DEVECI, F.; TARAKÇI, Z. The effects of different spices on chemical, biochemical, textural and sensory properties of White cheeses during ripening. **Mljekarstvo: časopis zaunaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka**, v. 69, n. 1, p. 64-77, 2019. Disponível em: <<https://hrcak.srce.hr/clanak/311892>>. Acesso em: 25 mai. 2022.

DIAS, E. S. Cultivo de cogumelos no Brasil: Desafios e potencialidades. **Ciência e Agrotecnologia**, 2010, v. 34, n. 4, p. 795–803. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cagro/a/9pfrF3jfVbhZts46s45YrGN/?lang=en>>. Acesso em: 13 mai. 2022.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A. **Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. 2.ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1997. 115p.

EKMEIRO-SALVADOR, J. E.; ARÉVALO-VERA, C. R. Vegetarianismo: Una caracterización antropométrica, dietética y motivacional en adultos venezolanos. **RESPYN Revista Salud Pública y Nutrición**, 2021, v. 20, n. 4, p. 57–72. Disponível em: <<https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/607>>. Acesso em: 23 mai. 2022.

ESPINOSA-PÁEZ, E. *et al.* *Pleurotus ostreatus*: A potential concurrent biotransformation agent/ingredient on development of functional foods (cookies). **Lwt**, 2021, v. 148, p. 111727. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002364382100880X>>. Acesso em: 13 mai. 2022.

FERRARI, M. C. **Proteínas e ingredientes alternativos no desenvolvimento de produtos plant-based: uma visão sobre sustentabilidade na cadeia de produção de alimentos e a valorização de ingredientes nativos do Brasil**. 2022. Trabalho de Conclusão de curso - Ciência e tecnologia de alimentos. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/232615>>. Acesso em: 17 mai. 2022.

FIDALGO, O.; FIDALGO, M. E. P. K. **Dicionário micológico**. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, p. 235, 1967.

FORTEA, M. I. *et al.* Kinetic characterisation and thermal inactivation study of polyphenol oxidase and peroxidase from table grape (Crimson Seedless). **Food Chemistry**, v. 113, n. 4,

p. 1008–1014, 2009. Disponível em: <<https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.foodchem.2008.08.053>>. Acesso em: 25 mai. 2022.

FREITAS, A. F.; MATTIETTO R. A. **Características físico-químicas e sensoriais de pirarucu (*Arapaima gigas*) cultivado em tanque-rede**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2020. Disponível em:<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1127440>>. Acesso em: 25 mai.2022.

FRESÁN, U.; SABATÉ, J. Vegetarian diets: planetary health and its alignment with human health. *Advances in nutrition*, v. 10, n. Supplement_4, p. S380-S388, 2019. Disponível em: https://academic.oup.com/advances/article-abstract/10/Supplement_4/S380/5624053 Acesso em: 17 mai. 2022.

FUNGICULTURA, 2022. Disponível em: <<https://www.fungicultura.com.br/especie/pleurotus-djamor/>>. Acesso em: 20 mai. 2022.

GARCÍA, M. M. *et al.* Effect of different cooking methods on the total phenolic content, antioxidant activity and sensory properties of wild *Boletus edulis* mushroom. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, 2021, v. 26, p. 100416. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100416>>. Acesso em: 20 mai. 2022.

GONÇALVES, A. S. A.; CASALVARA, R. F. A. Potencial aplicação de β - GLUCANOS de *Pleurotus ostreatoroseus* por meio de nanopartículas: uma revisão da literatura. 34f. 2020. Unicesumar - Universidade Cesumar: Maringá, 2020. Disponível em: <<https://rdu.unicesumar.edu.br/bitstream/123456789/7321/1/GON%c3%87ALVES%2c%20ANA%20SARAH%20ARANA.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2022.

GONÇALVES, E. M.; ABREU, M.; RAMOS, A. C. Tendências e oportunidades na fermentação de produtos vegetais. **Vida Rural**, 2021. Disponível em: <https://www.inia.vpt/images/publicacoes/2021/Tendencias_e_oportunidades_na_fermentacao.pdf>. Acesso em: 25 mai. 2022.

GONZÁLEZ, A. *et al.* Evaluation of functional and nutritional potential of a protein concentrate from *Pleurotus ostreatus* mushroom. **Food Chemistry**, 2021, v. 346, p. 128884.

Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881462032759X>>.

Acesso em: 10 mai. 2022.

GURGEL, A. O.; SOUZA, S. C. R.; PIRES, C. R. F. Método do índice de qualidade para avaliação de frescor do mapará. J. Bioen. **Food Science**, 2016, v. 3, n.2, p.103-112.

Disponível em: <[https://www-cabidigitallibrary-](https://www-cabidigitallibrary-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.5555/20193193516)

[org.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.5555/20193193516](https://www-cabidigitallibrary-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.5555/20193193516)>. Acesso em: 27 mai. 2022.

HAN LYN, F.; *et al.* Application of modified atmosphere and active packaging for oyster 32 mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **Food Packaging and Shelf Life**, 2020, v. 23, n.1, p.100451.

Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/6791931>>. Acesso em: 20 mai. 2022.

HERZ, E. *et al.* Influencing factors on the ability to assemble a complex meat analogue using a soy-protein-binder. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 73, p. 102806, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102806>. Acesso em: 23 mai. 2022.

HONORATO, T. L. *et al.* Produção de ácido láctico e dextrana utilizando suco de caju como substrato. **Ciência e tecnologia de alimentos**, 2007, v. 27, n. 2, p. 254-258. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/vHY5Pgqwr9xPVWj cq7qfqHh/?lang=pt&format=html>>.

Acesso em: 30 ago. 2023.

HOU, H.; *et al.* Characterization of flavor frame in shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) detected by HS-GC-IMS coupled with electronic tongue and sensory analysis: Influence of drying techniques. **LWT**, v. 146, p. 111402, 2021. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111402>. Acesso em: 25 mai. 2022.

HYLDIG, Grethe *et al.* Fish and sensory analysis in the fish chain. **Handbook of meat, poultry and seafood quality**, p. 499, 2007.

JESUS, A. L. T. de *et al.* Alimento análogo à linguiça calabresa à base de cogumelos *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* e *Agaricus bisporus* e proteína de soja. **FTT Journal of Engineering and Business**, n. 8, 2022. Disponível em:

<<http://saijournal.cefsa.org.br/index.php/FTT/article/view/518>>. Acesso em: 01 fev. 2024.

KOMURA, D. L. **Pleurotus ostreatus variedade florida: caracterização estrutural de polissacarídeos do micélio e exopolissacarídeos**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Faculdade de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, 2009.

KURT, A.; GENÇCELEP, H. Enrichment of meat emulsion with mushroom (*Agaricus bisporus*) powder: Impact on rheological and structural characteristics. **Journal of Food Engineering**, 2018, v. 237, p. 128-136. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.028>>. Acesso em: 13 mai. 2022.

LI, X.; *et al.* Molecular basis for *Poria cocos* mushroom polysaccharide used as an antitumour drug in China. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 23, n. 1, p. 4-20, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcmm.13564>>. Acesso em: 25 mai. 2022.

LIMA, R. C. *et al.* An Analysis of Total Phosphorus Dispersion in Lake Used As a Municipal Water Supply, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2015, v. 87, n. 3, p. 1505–1518. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/aabc/a/ZvjCnVTn3kcgZw8sK6Dy9yG/?lang=en>>. Acesso em: 04 dez. 2023.

LLAMAS-ARRIBA, M. G. *et al.* Lactic acid bacteria isolated from fermented doughs in Spain produce dextrans and riboflavin. **Foods**, 2021, v. 10, n. 9, p. 2004. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/9/2004>>. Acesso em: 06 fev. 2024.

LOBO, T. C. **Capela do Rio do Peixe em Pirenópolis/Goiás: Lugar de Festa. 2011. 184f.** 2011. Tese de Doutorado. Tese de Doutorado (Doutorado em Geografia). Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Santos Maia.— Universidade Federal de Goiás, Instituto de Estudos Sócioambientais, Goiânia, Goiás.

LOPES, R. X. *et al.* Application of spent *Agaricus subrufescens* compost in integrated production of seedlings and plants of tomato. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, 2015, v. 4, n. 3, p. 211-218. Disponível em: <<https://link-springer-com.ez26.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s40093-015-0101-7>>. Acesso em: 15 dez. 2023.

LOU, H.; *et al.* Stimulatory Effects of Oleci Acid and Fungal Elicitor on Betulinic Acid Production by Submerged Cultivation of Medicinal Mushroom *Inonotus obliquus*. **Journal of**

Fungi, v. 7, n. 4, p. 266, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/jof7040266>>. Acesso em: 25 mai. 2022.

LUÍZ, R. C.; HIRATA, T. A. M.; CLEMENTE, E. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). **Ciência e Agrotecnologia**, 2007, v. 31, n. 6, p. 1766–1773. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cagro/a/MmCwN6ZYsfRc8JxHTwypWNc/#>>. Acesso em: 28 out. 2022.

MACHADO, A. R. G. *et al.* Nutritional value and proteases of *Lentinus citrinus* produced by solid state fermentation of lignocellulosic waste from tropical region. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2016, v. 23, n. 5, p. 621–627. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1319562X15001643?via%3Di>hub>. Acesso em: 9 jul. 2022.

MANJARI, A.; CHANDRA, R. Effect of different essential oils on enzymatic activity of oyster mushroom (*Pleurotus florida*). **Current Science**, v. 121, n. 10, p. 1357, 2021. Disponível em: <<https://www.currentscience.ac.in/Volumes/121/10/1357.pdf>>. Acesso em: 24 ago. 2022.

MARQUES, T. E. D. *et al.* Crescimento de espécies nativas de Cerrado e de *Vetiveria zizanioides* em processos de revegetação de voçorocas. **Ciência Florestal**, 2014, v. 24, n. 4, p. 843–856. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cflo/a/ywBNBKfdjTwQc7sfQxFcz9d/?lang=pt#>>. Acesso em: 02 jan. 2024.

MEHTA, B. K.; *et al.* Optimization of the response surface of the osmotic dehydration process parameters for button mushroom (*Agaricus bisporus*) - Part I. **Focusing on Modern Food Industry**, 2013, v. 2, n. 2, p. 91-102. Disponível em: <<https://www.scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=24098>>. Acesso em: 20 mai. 2022.

MENEZES, T. A. de. **Produção de basidiomas e enzimas ligninolíticas de *Ganoderma lucidum* em resíduos de licuri**. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2014. Disponível em: <<http://200.128.81.65:8080/handle/tede/514>>. Acesso em: 14 jul. 2023.

MERLO, T. C. **Efeito da combinação de atmosfera modificada com filmes ativos sobre a qualidade e vida útil de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017. Disponível em: <doi:10.11606/D.11.2017.tde-07062017-091951>. Acesso em: 08 jun. 2022.

MIZOBUTSI, G. P. *et al.* Efeito do pH e da temperatura nas atividades de peroxidase e polifenoloxidase do pericarpo de lichia. **Scientia Agrícola**, 2010, v. 2, pág. 213–217. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/sa/a/sFcjZcKHYq4mpcb4z8bbgrm/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 17 set. 2023.

MONTEIRO, R. G. *et al.* The effect of exopolysaccharides obtained from lactic acid bacteria as a prebiotic: a systematic review. **Research, Society and Development**, 2021, v. 10, n. 15, p. e194101522547, 2021. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22547>>. Acesso em: 22 jun. 2022.

MONTERO, C. **Formación y desarrollo de un cluster globalizado: el caso de la industria del salmón en Chile**. Cepal, 2004. Disponível em: <<https://repositorio.cepal.org/server/api/core/bitstreams/70d93f8a-0d67-4a0d-a518-2a9f7706512f/content>>. Acesso em: 15 dez. 2023.

NG, Z. X.; TAN, W. C. Impact of optimised cooking on the antioxidant activity in edible mushrooms, **Journal of food science and technology**, 2017, v. 54, n. 12, p. 4100–4111. Disponível em: <<https://link-springer-com.ez26.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s13197-017-2885-0>>. Acesso em: 02 fev. 2024.

ORSINE, J. V. C.; BRITO, L. M.; NOVAES, M. R. C. G. Cogumelos comestíveis: uso, conservação, características nutricionais e farmacológicas. **Clinical and Biomedical Research**, 2012, v. 32, n. 4. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/29231>>. Acesso em: 5 fev. 2024.

PAGLARINI, C. de S. *et al.* Functional emulsion gels with potential application in meat products. **Journal of Food Engineering**, 2018, v. 222, p. 29–37. Disponível em: <<https://doi->

org.ez368.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.jfoodeng.2017.10.026>. Acesso em: 17 mai. 2022.

PAIVA, G. A. *et al.* Edible mushroom production in agro-industrial residues in Mato Grosso Amazonia. **Research, Society and Development**, 2021, v. 10, n. 14, p. e548101422523. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22523>>. Acesso em: 24 jan. 2024.

PAULO, E. M. *et al.* Método alternativo para triagem de bactérias lácticas para produção de exopolissacarídeos com confirmação rápida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2012b, v. 32, n. 4, p. 710–714. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/yWpbm9hYktSdKffj3pDMYNp/?lang=en#>>>. Acesso em: 05 fev. 2024.

PAULO, E. M. *et al.* Production, extraction and characterization of exopolysaccharides produced by the native *Leuconostoc pseudomesenteroides* R2 strain. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2012a, v. 84, n. 2, p. 495–508. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/aabc/a/dD7W6JcPprtRq536b9t99Qw/?lang=en#>>>. Acesso em: 01 nov. 2022.

PAZZA, A. C. V. *et al.* Composição nutricional e propriedades funcionais fisiológicas de cogumelos comestíveis. **Fag Journal of Health (FJH)**, 2019, v. 1, n. 3, p. 240-265. Disponível em: <<https://fjh.fag.edu.br/index.php/fjh/article/view/89/110>>. Acesso em: 5 mai. 2022.

PEDRA, W. N. *et al.* Análise química e sensorial de *Pleurotus ostreatus* cultivado em casca de coco suplementada com farelo de trigo e/ou de arroz. **Arquivos do Instituto Biológico**, 2009, v. 76, n. 1, p. 91-98. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p0912009>>. Acesso em: 01 mai. 2022.

PEGLER, D. N.; SPOONER, B. **Identifying mushrooms**. New Jersey: Chartwell Books, p. 80, 1994.

PÉREZ-MONTES, A. *et al.* Edible mushrooms as a novel trend in the development of healthier meat products. **Current Opinion in Food Science**, 2021, v. 37, p. 118-124.

Disponível em: <https://doi-org.ez368.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.cofs.2020.10.004>.

Acesso em: 23 mai. 2022.

PHAT, C.; MOON, B. K.; LEE, C. Evaluation of umami taste in mushroom extracts by chemical analysis, sensory evaluation, and an electronic tongue system. **Food Chemistry**, 2016, v. 192: 1068-1077. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814615011462>>. Acesso em 30 abr. 2022.

PURSLOW, P. P. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. **Meat science**, 2005, v. 70, n. 3, p. 435-447. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.028>>. Acesso em: 14 abr. 2022.

PURSLOW, P. P. The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 2002, v. 133, n. 4, p. 947-966. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00141-1](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00141-1)>. Acesso em: 08 mar. 2023.

RAMIREZ, B. D. G., OSORIO, M. C. E., PINILLA, A. M. R. Evaluación del etiquetado de alimentos dirigidos a población vegetariana en Colombia. **Revista Española de Nutrición Humana y Dietética**, 2021, v. 25, n. 4, p. 403-418. Disponível em: <<https://renhyd.org/renhyd/article/view/1351/933>>. Acesso em: 05 fev. 2024.

RATHORE, H. *et al.*. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: a review. **Pharmanutrition**, v. 5, n. 2, p. 35-46, jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2017.02.001>>. Acesso em: 15 mai. 2022.

REID, T. *et al.* Propriedades antibacterianas de cogumelos silvestres comestíveis e não comestíveis encontrados no Zimbábue. **Jornal Africano de Pesquisa em Microbiologia**, 2016, v. 10, n. 26, p. 977-984. Disponível em: <<https://academicjournals.org/journal/AJMR/article-abstract/F69937E59332>>. Acesso em: 23 mai. 2022.

RÉVILLION, J. P. *et al.* O mercado de alimentos vegetarianos e veganos: características e perspectivas. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, 2020, v. 37, n. 1, p. 1-10, 2020. Disponível

em: <<https://seer.sct.embrapa.br/index.php/cct/article/view/26603/14566>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

RFI - Radio France Internationale. Cada vez mais comuns, peixes de cativeiro trazem riscos ambientais e à saúde, 2013. Disponível em: <<https://www.rfi.fr/br/geral/20131212-cada-vez-mais-comuns-peixes-de-cativeiro-trazem-riscos-ambientais-e-saude>>. Acesso em: 02 fev. 2024.

RIBEIRO, D. S. *et al.* Aceitação de produto “almôndega” elaborada a partir de filé de peixe. **Higiene Alimentar**, 2013, v. 27, n. 2, p. 3486-3490. Disponível em: <<http://www.fiperj.rj.gov.br/index.php/arquivo/download/52>>. Acesso em: 27 mai. 2022.

RIBEIRO, J. C., GOMES, A. L. A., CHALES, A. S. Cogumelos shiitake – demanda crescente. **Revista Campo e negócios**. 2021. Disponível em: <<https://revistacampoenegocios.com.br/cogumelos-shiitake/>>. Acesso em: 06 abr. 2022.

RODRIGUES, B. L.; *et al.* Perfis de ácidos graxos de cinco espécies de peixes de água doce brasileiros de diferentes famílias. **PLoS ONE**, 2017, v. 12, n. 6, p.e0178898. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178898>>. Acesso em: 26 mai. 2022.

RODRIGUES, G. de M. .; OKURA, M. H. Edible mushrooms in Brazil: a literature review. **Research, Society and Development**, 2022, v. 11, n. 8, p. e24711830830. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/30830>>. Acesso em: 5 fev. 2024.

RONCERO-RAMOS, I.; *et al.* 2017. Effect of different cooking methods on nutritional value and antioxidant activity of cultivated mushrooms. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 68, n. 3, p.287–297. Disponível em: <https://www-periodicos-capes-gov-br.ez26.periodicos.capes.gov.br/index.php/buscaador-primo.html>. Acesso em: 18 mai. 2022.

ROSSI, G. S.; TURKO, A. J.; WRIGHT, P. A. Oxygen drives skeletal muscle remodeling in an amphibious fish out of water. **Journal of Experimental Biology**, 2018, v. 221, p.180257. Disponível em: <<https://doi.org/10.1242/jeb.180257>>. Acesso em: 07 fev. 2023.

SÁ, A. G. A., MORENO, Y. M. F.; CARCIOFI, B. A. M. Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. **Trends in Food Science & Technology**, 2020, v. 97, p.

170-184. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.011>>. Acesso em: 12 mai. 2022.

SÄDE, E. ***Leuconostoc* spoilage of refrigerated, packaged foods**. Helsinki: University of Helsinki, 2011. 57 p. Disponível em: <<https://core.ac.uk/reader/14919290>>. Acesso em: 05 fev. 2024.

SANTOS, E. R. D.; JUNIOR, P. A. H. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos**. 2015.

SAOWAKOON, S.; *et al.* Growth and feeding behavior of fishes in organic rice–fish systems with various species combinations. **Aquaculture Reports**, v. 20, p. 100663, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100663>>. Acesso em: 25 mai. 2022.

SATO, K. *et al.* Isolation of intact type V collagen from fish intramuscular connective tissue. **Journal of food biochemistry**, 1998, v. 22, n. 3, p. 213-225. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1998.tb00240>>. Acesso em: 14 ago. 2023.

SEKAN, A. S. *et al.* Green potential of *Pleurotus spp.* in biotechnology. **PeerJ**, 2019, v. 7, n. 29, p. e6664. Disponível em: <<https://peerj.com/articles/6664/>>. Acesso em: 29 abr 2022.

SIKORSKI, Z. E. **Seafood: resources, nutritional, composition and preservation**. Boca Raton (USA): CRC Press Inc: p. 248, 1990.

SILVA, E. G. *et al.* Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. **LWT - Food Science and Technology**, 2007, v. 27, n. 1, p. 72-75. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000100013>>. Acesso em: 30 abr. 2022.

SILVA, J. J. *et al.* Produção de lacase de fungos basidiomicetos por fermentação submersa com casca de café. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, 2012, v. 15, n. 2, p. 191-196, 2012. Disponível em: <<https://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/viewFile/4234/2643>>. Acesso em: 30 abr. 2022.

SILVA, L. B.; SILVA, S. S.; BUENO, M. J. C. Fluxo produtivo do cogumelo: estudo de caso em um produtor do alto tietê. **XI FATECLOG - Os desafios da logística real no universo**.

2020. Disponível em:

<[https://fateclog.com.br/anais/2020/FLUXO%20PRODUTIVO%20DO%20COGUMELO%20ESTUDO%20DE%20CASO%20EM%20UM%20PRODUTOR%20DO%20ALTO%20TIE T%C3%8A\(1\).pdf](https://fateclog.com.br/anais/2020/FLUXO%20PRODUTIVO%20DO%20COGUMELO%20ESTUDO%20DE%20CASO%20EM%20UM%20PRODUTOR%20DO%20ALTO%20TIE T%C3%8A(1).pdf)>. Acesso em: 26 mar. 2022.

SILVA, M. L. C. *et al.* Caracterização química de glucanas fúngicas e suas aplicações biotecnológicas. **Química Nova**, 2006, v. 29, n. 1, p. 85-92. Disponível em: <https://s3.amazonaws.com/static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol29No1_85_16-RV04316.pdf>. Acesso em: 3 abr. 2022.

SINGER, R. **The Agaricales in modern taxonomy**. Weinheim: J. Cramer, p. 912, 1975.

SINGH, M. *et al.* Proceedings of 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8), New Delhi, India, 19-22 November 2014. Volume I & II. In: **Proceedings of 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8), New Delhi, India, 19-22 November 2014. Volume I & II**. ICAR-Directorate of Mushroom Research, 2014. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20153365466>>. Acesso em: 13 mai. 2022.

SONI, R. *et al.* **Microbial Bioactive Compounds: Industrial and Agricultural Applications**. Springer Nature, 2023.

STEPHENS, K. *et al.* Bacterial co-culture with cell signaling translator and growth controller modules for autonomously regulated culture composition. **Nat Commun**, 2019, v. 10, p. 4129. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12027-6>. Acesso em: 14 mai. 2022.

STOFFEL, F. *et al.* Use of *Pleurotus Albidus* Mycoprotein Flour to Produce Cookies: Evaluation of Nutritional Enrichment and Biological Activity. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 2021, v. 68. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102642>>. Acesso em: 23 mai. 2022.

TAVARES, A. C. D. **Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* INPA 1467: Produção, composição centesimal e mineral**. 2015. 91 f. Dissertação Mestrado em Biotecnologia - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015. Disponível em: <<https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/5797>>. Acesso em: 19 mai. 2022.

THE GOOD FOOD INSTITUTE (GFI). **O consumidor brasileiro e o mercado plant-based**. 2019. Disponível em: <<https://gfi.org.br/wp-content/uploads/2021/02/O-consumidor-brasileiro-e-o-mercado-plant-based.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2022.

The Good Food Institute Brasil (GFI) - PACHECO, M. T. B.; SADAHIRA, M. S. **Proteínas vegetais (plant-based)**. Série Tecnológica das Proteínas Alternativas, 2022. E-Book: PDF, 51 p. Disponível em: <<https://gfi.org.br/wp-content/uploads/2022/11/Serie-Tecnologica-Plant-Based-GFI-Brasil.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2023.

TOCHETTO, N. R. **Eficiência do processamento térmico *sous vide* em brócolis (*brassica oleracea*) tratados com cloreto de cálcio**. 2018, 43 f, Dissertação (Mestrado), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Morrinhos - GO.

TSIKRIKA, K. *et al.* Effect of Ultrasound on the Activity of Mushroom (*Agaricus bisporous*) Polyphenol Oxidase and Observation of Structural Changes Using Time-resolved Fluorescence. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, p. 656–668, 2022. Disponível em: <<https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s11947-022-02777-5>>. Acesso em: 01 out. 2023.

URBEN, A. F. *et al.* **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2 ed., p. 187, 2004.

VALVERDE, M. E. *et al.* Edible mushrooms: Improving human health and promoting quality life. **International Journal of Microbiology**. p. 1-14, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25685150/>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

VASCONCELOS, N. C. M. *et al.* Análise sensorial de barras de cereal adicionadas de farinha de cogumelo *pleurotus eryngii*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, 2021, v. 25, n. 2. Disponível em: <<https://pap.emnuvens.com.br/pap/article/view/227>>. Acesso em: jun. 2022.

VUNDUK, J.; *et al.* Challenging the difference between white and brown *Agaricus bisporus* mushrooms. **British food journal**, 2018, v. 120, n. 6, p. 1381-1394. Disponível em: <<https://www-periodicos-capes-gov-br.ez26.periodicos.capes.gov.br/index.php/buscaador-primo.html>>. Acesso em: 16 mai. 2022.

WANG, Y.; *et al.* Macrophage immunomodulatory activity of the polysaccharide isolated from *Collybia radicata* mushroom. **International journal of biological macromolecules**, v.108, p. 300-306, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.025>>. Acesso em: 28 mai. 2022.

YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J. *et al.* Factorial Design to Optimize Dextran Production by the Native Strain *Leuconostoc mesenteroides* SF3. **ACS omega**, 2021, v. 6, n. 46, p. 31203-31210. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsomega.1c04856>>. Acesso em: 30 ago. 2023.

YILMAZ, M. T. *et al.* Bioactive and technological properties of an α -D-glucan synthesized by *Weissella cibaria* PDER21. **Carbohydrate polymers**, 2022, v. 285, p. 119227. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S014486172200131X>>. Acesso em: 13 set. 2023.

YORUK, R.; MARSHALL, M. R. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. **Journal of food biochemistry**, 2003, v. 27, n. 5, p. 361–422. Disponível em: <<https://onlinelibrary-wiley.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1111/j.1745-4514.2003.tb00289.x>>. Acesso em: 13 fev. 2023.

YU, L. *et al.* Role of Dietary Edible Mushrooms in the Modulation of Gut Microbiota. **Journal of Functional Foods**, 2021, v. 83, p. 104538. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464621001870?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

ZHANG, H. *et al.* Characterization and comparison of key aroma compounds in raw and dry porcini mushroom (*boletus edulis*) by aroma extract dilution analysis, quantitation and aroma recombination experiments. **Food Chemistry**, 2018. 258: 260-68. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814618304886>>. Acesso em: 01 mai. 2022.

ZHANG, J. *et al.* Association between edible mushrooms consumption and handgrip strength: A large-scale population based on the TCLSIH cohort study. **Clinical nutrition (Edinburgh,**

Scotland), 2022, v. 41, n. 6, p.1197–1207. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0261561422001182>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

ZHANG, K.; PU, Y-Y; SUN, D-W. Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. **Trends in Food Science & Technology**, 2018, v. 78, pp.72–82. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418300530>>. Acesso em: 16 mai. 2022.

ZHONG, V. W. *et al.* Associations of processed meat, unprocessed red meat, poultry, or fish intake with incident cardiovascular disease and all-cause mortality. **JAMA Internal Medicine**, 2020, v. 180, n. 4, p. 503-512. Disponível em: <[10.1001/jamainternmed.2019.6969](https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2019.6969)>. Acesso em: 23 mai. 2022.

Capítulo 2. ARTIGO

Desenvolvimento de análogo a filé de peixe usando fermentação semi-sólida de cogumelos de *Pleurotus ostreatus* por bactérias lácticas produtoras de exopolissacarídeos

Joana Moratto Silva¹, Emerson Tokuda Martos¹, Ana Paula de Moraes Silva¹, Ana Alice Andrade Oliveira¹, Olga Lucia Mondragón-Bernal¹ e José Guilherme Lembi Ferreira Alves¹

¹Departamento de Ciências de Alimentos – DCA, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Lavras (UFLA) Caixa Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – Brasil

joanamttsilva@gmail.com, olga@ufla.br, jlembi@ufla.br

RESUMO

Os cogumelos comestíveis têm apresentado crescente aumento no consumo em países como o Brasil, devido a sua composição nutricional, textura e sabor agradáveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de variáveis de formulação e fermentação do meio à base de cogumelo de *Pleurotus ostreatus* (PO) para elaboração de análogos à filé de peixe. Foram testados dois microrganismos para fermentação: *Leuconostoc pseudomesenteroides* (LM) e *Weissella cibaria* (WC). Foi determinada a melhor condição (80°C/10 min) de tratamento térmico da matéria-prima à partir de um planejamento Plackett&Burman 8 (PB8), com redução da atividade enzimática de 109 e 182 ((u.E/min)/g de cogumelo fresco para 18 e 16 ((u.E/min)/g de cogumelo, para polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD), respectivamente. O microrganismo *W. cibaria* (WC) foi selecionado, pela melhor produção de exopolissacarídeos (EPS) em relação ao *Leuconostoc pseudomesenteroides* (LM). Usando um PB12 realizou-se um estudo com o objetivo de determinar a melhor formulação para um análogo de peixe plant-based. Determinou-se que o uso do ultrassom não se fez necessário durante o tratamento térmico dos análogos, a PIS quando utilizada no maior nível de este estudo (8% m/m) causou maior dureza e menor número de defeitos na avaliação sensorial de textura. Em conclusão, a *W. cibaria* foi capaz de fermentar o meio à base de cogumelo e insumos e também de produzir EPS, resultando em um potencial protótipo de análogo de peixe.

Palavras-chave: hiratake, escurecimento enzimático, polifenoloxidase, peroxidase, exopolissacarídeos, fungos comestíveis, cola microbiana, *Weissella cibaria*.

1. INTRODUÇÃO

A busca por alimentos saudáveis encontra-se em constante crescimento no cenário contemporâneo. O perfil dos consumidores é diversificado, sendo que há uma crescente tendência na demanda e consumo da categoria de alimentos para os públicos vegano, vegetariano e flexitariano, além dos produtos sustentáveis (LIMA *et al.*, 2022). Esta preocupação e adesão a este tipo de alimentação pode estar relacionada com questões ambientais, origens étnicas, orientações religiosas e bem-estar animal (RÉVILLION *et al.*, 2020).

Para atender à demanda dos consumidores e acompanhando a nova crescente do setor, os produtos contendo proteínas alternativas de origem vegetal ou microbiana têm apresentado grande potencial no mercado. Neste sentido, um desafio para a indústria de alimentos é acompanhar este mercado e desenvolver produtos que sejam isentos de componentes derivados de animais e que forneçam valor nutricional suficiente para se tornarem uma alternativa prática nas rotinas alimentares diárias da população (COSTA *et al.*, 2022).

Os análogos à carne estão ganhando destaque nesse setor devido aos benefícios que proporcionam ao meio ambiente, bem como à sua semelhança em sabor, aparência e textura em comparação com carnes convencionais, incluindo bovina, suína, de frango e de peixe. Seu valor nutricional pode ser equiparável, ou até mesmo superior, ao dos alimentos de origem animal correspondentes (PALHARES, 2023). Uma opção para o desenvolvimento de análogos aos alimentos de origem animal são os cogumelos, que desde a antiguidade são consumidos devido ao seu potencial medicinal, nutritivo e sensorial (ORSINE; BRITO; NOVAES, 2013).

Os fungos comestíveis contém alto valor nutricional, com significativas quantidades de proteínas em base seca, fibra alimentar, minerais e vitaminas, além de compostos como β -glucanas, hemiceluloses, matérias pécticas, aminoácidos essenciais e carboidratos, incluindo quitina, glicogênio, trealose e manitol, esses alimentos também são buscados para consumo por apresentarem baixos níveis calóricos e lipídicos (SILVA *et al.*, 2020).

Uma das dificuldades na elaboração de análogos a produtos de origem animal é obter uma estrutura semelhante ao tecido muscular e conjuntivo dos mesmos, usando-se ingredientes vegetais sem utilizar nenhum ingrediente ou insumo de origem animal. Em relação ao tecido conjuntivo, o uso de polissacarídeos e gomas pode ser uma alternativa (RAMACHANDRAIAH, 2021).

Os exopolissacarídeos (EPS) podem ser definidos como polissacarídeos extracelulares, produzidos por alguns fungos e bactérias, podendo ser encontrados ligados à superfície das células excretados para o meio extracelular, na forma de limo (MONDRAGÓN-BERNAL *et al.*, 2012; MONDRAGÓN-BERNAL; FILHO, 2008).

As bactérias ácido lácticas são produtoras importantes de EPS, especialmente os gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* e *Leuconostoc*. Responsáveis por desempenhar características reológicas e sensoriais positivas em fermentados, são capazes também de atuar como fonte prebiótica e exercer atividades antitumorais, imunomoduladoras, antiolesterolêmica ou de diminuição da resposta inflamatória causada por *Helicobacter pylori* (LIMA *et al.*, 2021).

As pesquisas sobre a produção de EPS por bactérias ácido lácticas (BAL) têm aumentado significativamente nas últimas décadas, visando destacar suas propriedades funcionais e aumentar a aplicação industrial desses polissacarídeos, que ainda são pouco aplicados como aditivos naturais ou funcionais nas indústrias de alimentos (MONDRAGÓN-BERNAL *et al.*, 2007; MONDRAGÓN-BERNAL *et al.*, 2017).

A aplicação dos EPS possibilita impactos significativos no desenvolvimento de novos produtos, fermentados ou não, e melhorias notáveis nas propriedades reológicas, texturais e de estabilidade dos produtos, além de aprimorar a capacidade de retenção de água. Além disso, a presença de EPS pode ter implicações positivas na estimulação do sistema imunológico, abrindo possibilidades para o desenvolvimento de alimentos que não apenas ofereçam características sensoriais aprimoradas, mas também proporcionem benefícios à saúde (YUHARA *et al.*, 2014).

Os EPS podem ser encontrados na composição natural dos alimentos, como ocorre no cogumelo hiratake ou podem ser obtidos por meio de processos fermentativos microbianos, líquidos ou semi-sólidos. A produção também pode ocorrer em biorreatores, com controle preciso das condições de cultivo. A seleção cuidadosa de microrganismos, otimização das condições de cultivo e purificação são essenciais na determinação da qualidade dos polissacarídeos produzidos (ORLANDELLI *et al.*, 2012).

A fermentação semi-sólida, normalmente usa como substrato farinhas, farelos, cascas, bagaços e resíduos ou subprodutos da agroindústria, constituídos por celulose, hemicelulose, lignina, amido, pectina e proteínas, e que dessa forma atuam tanto como fonte de carbono e energia quanto de suporte para o crescimento microbiano (SOUZA *et al.*, 2010).

Portanto, os objetivos deste trabalho foram desenvolver um análogo à filé de peixe branco a partir da fermentação semi-sólida de cogumelos *P. ostreatus* e outros insumos por bactérias lácticas e determinar os efeitos de variáveis de formulação e de processo na elaboração dos protótipos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das matérias-primas

Os cogumelos do fungo *P. Ostreatus*, usados na pesquisa, foram adquiridos da Cogumelos do Japinha - Bom Sucesso/Brasil, após recebidos foram higienizados, com papel toalha estéril, separados em chapéu e estipe e mantidos sob refrigeração (4°C) até seu uso nos experimentos, no máximo 24h após a colheita.

2.2 Quantificação de *Enterobacteriaceae* dos cogumelos *in natura*

Para a análise microbiológica foram utilizadas amostras de 25g de chapéu e estipe de cogumelo *P. ostreatus* (hiratake) e 225mL de água peptonada 0,1% (m/v) estéril (121 °C/15 min). A homogeneização das amostras foi realizada em equipamento do tipo “Stomacker” por 3 minutos com 600 golpes/minuto, constituindo a diluição 10^{-1} seguida por diluições seriadas até 10^{-7} em tubos de ensaio contendo água peptonada estéril. Posteriormente, 1mL de cada diluição foi transferida, em duplicata, para placas de petri autoclavadas, que foram então acrescidas de ágar VRBG (Violet Red Bile Glucose) estéril e incubadas em estufa a 37°C/24h.

2.3 Otimização da etapa de branqueamento

Os tratamentos foram realizados em duplicata usando-se apenas os chapéus dos cogumelos hiratake, que logo após recebidos, foram selecionados, limpos com papel toalha e separados das estipes.

Foi realizado um Planejamento experimental Plackett & Burman 8 (PB8) com 4 variáveis independentes (Temperatura (°C) – T – x1; Tempo (min) – t – x2; Concentração de ácido cítrico (%m/v) – AC – x3; Concentração de bicarbonato (%m/v) – Bic – x4), totalizando 8 tratamentos e 3 pontos centrais, conforme Tabela 2. Para cada ensaio foram pesados 50g de chapéu transferidos para embalagens plásticas, adicionadas conforme PB8, de soluções aquosas de ácido cítrico e bicarbonato de sódio nas concentrações de 0%, 0,5% e 1% (m/v). As embalagens foram seladas a vácuo e submetidas a tratamento térmico em banho com água, por

intervalos de tempo de 1, 4 e 7 minutos a temperaturas de 40, 60 e 80°C. Posteriormente, os cogumelos foram resfriados em banho de gelo por 5 minutos.

Tabela 2. Relação de valores codificados e reais das variáveis independentes do planejamento experimental Plackett-Burman 8

Variáveis		Valores reais dos níveis		
		-1	0	1
Temperatura (°C)	x1	40	60	80
Tempo (min)	x2	1	4	7
Ácido cítrico (% m/v)	x3	0	0,5	1
Bicarbonato (% m/v)	x4	0	0,5	1

Fonte: Autoral, 2021.

Foram analisadas as variáveis independentes: perfil de textura (Dureza - y1; Elasticidade - y2; Coesividade - y3; Gomosidade - y4; Mastigabilidade - y5; Resiliência - y6), padrão de luminosidade e cromaticidade (L^* - y7; a^* - y8; b^* - y9) e atividade enzimática (Redução de atividade da Polifenoloxidase - y10 e Redução de atividade da Peroxidase - y11).

Para analisar o efeito do branqueamento, avaliou-se o perfil de textura, a cor da matéria-prima e por isso foi realizada análise do padrão de luminosidade e cromaticidade.

O ácido cítrico e o bicarbonato de sódio foram usados como aditivos, a fim de através do ajuste do pH, inibir a enzima polifenoloxidase (PPO), que além de responsável pelo escurecimento enzimático, também limita a vida útil dos cogumelos a poucos dias.

Após análise dos resultados, foram realizados mais três tratamentos térmicos, a 80°C e sem adição de ácido cítrico e bicarbonato de sódio, por período de 7; 10 e 13 min. Os resultados foram analisados utilizando-se o software STATISTICA 10.0 (StatSoft, 2010).

2.3.1 Branqueamento das estipes trituradas

Com o intuito de se aproveitar integralmente os cogumelos hiratake, as condições de branqueamento expostas no item 2.3 foram aplicadas para estipes trituradas (purê) e foram submetidas às mesmas análises do PB8. Os resultados obtidos foram analisados utilizando-se o software STATISTICA 10.0 (StatSoft, 2010).

2.3.2 Textura

Foi realizada a análise de perfil de textura com um texturômetro (TA.XT plus Texture Analyzer, Stable Micro Systems Ltd.), equipado com uma célula de carga de 5 kg. Os

parâmetros utilizados foram baseados no trabalho de Bernardo *et al.* (2022). Foi utilizada a sonda cilíndrica P/75 mm de diâmetro. Os chapéus branqueados foram cortados em cubos de aresta de 1,27 cm (2,0 cm³) e foram comprimidos duas vezes a 50 % de sua espessura original a uma velocidade de pré-teste de 1 mm/s. O teste e pós-teste foram realizados com velocidade de 2 mm/s entre os ciclos de compressão, usando a probe a 30 mm de altura inicial. A firmeza (g) foi obtida por análises da curva de força em função do tempo, foi registrada e a partir dela foram calculados os parâmetros de dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência pelo software do equipamento. Foram realizadas cinco repetições das análises para cada ensaio. Os resultados de perfil de textura foram comparados com os obtidos com amostras de filé de tilápia, utilizadas como padrão para os análogos de peixe.

2.3.3 Medição de cor

Os parâmetros de luminosidade e cromaticidade foram medidos usando o colorímetro Konica Minolta CM-5 (Minolta, Osaka, 20 Japão). Após calibração com cor branca e preta, as amostras foram colocadas em placa transparente e realizada a análise em triplicata. Os resultados foram expressos de acordo com o sistema CIE LAB com referência ao iluminante D65 e um ângulo visual de 10°. Os seguintes parâmetros foram determinados: L*, a* e b*, em que L* define a luminosidade (L* = 0 - preto e L* = 100 - branco) e a* e b* são responsáveis pela cromaticidade (+a* vermelho e -a* verde; 25 +b* amarelo e -b* azul) (CIE, 1986). Foram realizadas análises com filé de tilápia também para ter os parâmetros de cor do peixe como padrão.

2.3.4 Atividades enzimáticas de Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (POD)

2.3.4.1 Preparo do extrato enzimático de cogumelo

A atividade enzimática foi determinada adaptando-se à metodologia proposta por Campos e Silveira (2003). Inicialmente foram triturados com o auxílio de um mixer 50 g de amostra com 50 mL de solução tampão fosfato de concentração 0,05 mol/L e pH 7,0, até completa homogeneização. Em seguida, a amostra foi filtrada usando filtro de poliéster (organza). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 9083 g/10 min a 4 °C e o sobrenadante foi coletado em frasco âmbar. Tanto os reagentes quanto o extrato enzimático foram armazenados sob refrigeração a 4°C até o momento da análise para determinação da atividade das enzimas PPO e POD. As análises foram realizadas em triplicata.

2.3.4.1.1 Polifenoloxidase (PPO)

A atividade da PPO foi realizada colocando-se em tubos de ensaio 1,0 mL do extrato enzimático, com 1,8 mL do tampão fosfato 0,1 mol/L e pH 7,0, acrescidos de três gotas 5 de catecol 10 mol/L. Os tubos foram levados em banho maria a 30 °C por 30 min, após decorrido esse tempo, a reação foi interrompida pela adição de 1,6 mL de ácido perclórico 2 mol/L. Foi utilizado como branco (B), uma solução composta pelos mesmos reagentes especificados acima e água destilada. Para leitura da absorbância foi utilizado um espectrofotômetro de marca Micronal, modelo AJX-1000 no comprimento de onda de 395 nm.

Uma unidade da enzima (UE) foi definida como a quantidade de extrato enzimático que acusou um aumento na absorbância de 0,001 unidades por minuto (CAMPOS; SILVEIRA, 2003), a partir da unidade encontrada foi calculada a redução da atividade da enzima com relação ao valor de UE obtido para o chapéu in natura.

2.3.4.1.2 Peroxidase (POD)

A atividade da POD foi determinada através da absorbância do guaiacol. Em tubos de ensaio, foram adicionados 3 mL do extrato enzimático em 5 mL de tampão fosfato-citrato 0,02 mol/L (pH = 5,0) e 0,5 mL de guaiacol. Os tubos foram levados em banho maria a 30 °C por 5 minutos e a reação foi interrompida pela adição de 1,0 mL de bissulfito de sódio 30 %m/v.

Para zerar a absorbância, o volume de extrato foi substituído por água destilada e as leituras de absorbância foram feitas a 470 nm. A redução da atividade da enzima POD foi calculada com relação ao valor de UE obtido para o chapéu in natura.

2.3.5 Microrganismo

2.3.5.1 Bactérias ácido lácticas

Os microrganismos *Leuconostoc Pseudomesenteroides* e *Weissella cibaria*, utilizados neste estudo, foram cedidos pela Coleção de Culturas do laboratório de Microbiologia Agrícola (CCMA) localizado no Departamento de Biologia (DBI), da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As bactérias listadas foram escolhidas de acordo com a disponibilidade da CCMA, por serem GRAS e por apresentarem boa produtividade de exopolissacarídeos (EPS) (Paulo *et al.*, 2012; Monteiro *et al.*, 2021).

2.3.5.2 Propagação e estoque da cultura

A propagação do *L. pseudomesenteroides* foi iniciada transferindo-se, com o auxílio de alças de platina, as colônias para cinco tubos de ensaio, cada um deles, contendo 10 mL de caldo Man, Rogosa e Sharpe (MRS) isento de componentes de origem animal, composto por 10 g/L de peptona bacteriológica, 10 g/L de extrato de soja, 5 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de glicose, 1 g/L de Tween 80, 2 g/L de fosfato de dipotássico, 5 g/L de acetato de sódio, 1,86 g/L de citrato de amônio, 0,20 g/L de sulfato de magnésio e 0,05 g/L de sulfato de manganês previamente esterilizado em autoclave a 121°C/15 min. Os meios foram incubados em agitador orbital (shaker), a 30°C/72h. O mesmo processo foi repetido para a propagação da *W. cibaria*, incubada a 30°C/48h.

Para o armazenamento das culturas estoque, uma alíquota de 0,5 mL do inóculo anteriormente propagado em caldo MRS e concentrado, foi transferida para eppendorfs, previamente esterilizados (121 °C/15 min) e adicionados de 0,5 mL de solução anticongelante de glicerol 40% estéril. Todos os eppendorfs, devidamente identificados, foram congelados.

2.3.5.3 Preparo do inóculo e curvas de crescimento

O inóculo de cada uma das duas bactérias lácticas foi feito a partir da cultura estoque de *L. Pseudomesenteroides* e *W. cibaria*.

O preparo do inóculo, para cada uma das culturas, partiu da separação de 5 tubos de ensaio com 9 mL de caldo MRS estéril, que foram então adicionados de 1 mL da cultura estoque e mantidos em incubadora shaker a 30/24h°C para ambos os microrganismos.

Posteriormente, 5mL do inóculo anterior de cada uma das culturas, foram transferidos para 5 tubos tipo Falcon de 50mL contendo 45 mL de caldo MRS estéril em cada um (tempo zero). Os tubos foram então encaminhados para a incubadora shaker a 30°C (*L. pseudomesenteroides* e *W. cibaria*) e a cada 2 horas, assim como no tempo zero, foram retiradas amostras para medir o valor de absorbância por meio da leitura em espectrofotômetro (600 nm) e para realizar a contagem de colônias por meio de plaqueamento em profundidade.

O preparo das amostras para a contagem das colônias foi dado pela retirada de amostras de 100µL, transferidas para eppendorffs contendo 900µL de água peptonada (0,01%), nas diluições decimais subsequentes de 10^{-5} a 10^{-10} (*L. pseudomesenteroides*) e 10^{-3} a 10^{-9} (*W. cibaria*). Foi então realizado plaqueamento em profundidade (*pour-plate*) em Ágar MRS + 0,1% de azul de anilina. As placas devidamente identificadas, foram envoltas em plástico filme

e armazenadas em incubadora shaker a 30°C/48 horas (*L. pseudomesenteroides* e *W. cibaria*). Após decorrido o tempo de incubação, foi realizada, em triplicata, a contagem das placas e os resultados foram expressos em Log UFC/mL. Foi feita a correlação entre absorbância e número de células viáveis e as curvas de crescimento dos microrganismos *L. pseudomesenteroides* e *W. cibaria* encontram-se no APÊNDICE A.

2.4 Testes preliminares de fermentação de chapéus e estipes trituradas com *L. pseudomesenteroides* e *W. cibaria*

A capacidade colante dos chapéus apenas com as estipes trituradas, foi testada através da montagem de diferentes estruturas em potes de vidro retangulares, alternando camadas dos dois componentes a fim de se aproximar da estrutura desejável de um análogo a peixe.

Com o objetivo de otimizar a estrutura alcançada apenas com cogumelos, foi descartado o uso dos chapéus, pois os mesmos não se aderiram às estipes trituradas, apresentaram significativa liberação de exsudato e menor luminosidade na análise de cor.

Dessa forma, foi realizado então o teste de fermentação semi-sólida partindo-se da inoculação das estipes trituradas, inoculadas com culturas de *L. pseudomesenteroides* ou *W. cibaria*, preparadas conforme descrito no item 2.3.5.3.

Foi avaliado no pré-teste três tratamentos e um tratamento controle. O tratamento controle consistia em somente a aplicação do branqueamento, o tratamento 1 na aplicação de branqueamento seguido da fermentação do cogumelo triturado, o tratamento 2 na aplicação do branqueamento e adição de 10,7% de sacarose ao cogumelo triturado e o tratamento 3 no branqueamento e adição de 10,7% de sacarose e 6% de aveia.

Observou-se então que o uso da *W. cibaria* se mostrou mais viável visto que não necessitava ajuste de pH do meio fermentativo, o que resultou em uma melhor textura do análogo, mais firme e com menor liberação de exsudato.

2.5 Elaboração de análogos à filé de peixe

2.5.1 Tratamento térmico com uso de tripolifosfato de sódio e *sous vide*

Para o tratamento térmico de branqueamento foi utilizado tripolifosfato para diminuição do exsudato, conforme trabalho de Sampaio, Lobão e Rocco (2018) e associado branqueamento com e sem ultrassom por meio do uso de *sous vide*, adaptado de Doroški *et al.* (2022).

2.5.2 Matérias-primas, insumos e coadjuvantes

Para as formulações foram utilizados: Cogumelos *P. ostreatus*, mantidos sob refrigeração (4 °C) até a realização dos experimentos com intervalo máximo de manipulação de 24 h após a colheita; Proteína isolada de soja - PIS (%m/m), Proteína de ervilha – PE (%m/m), Farinha de aveia - FA (%m/m), Farinha de feijão branco - FFB (%m/m), Óleo de microalgas (Ômega 3) vegano - Ô3 (%m/m) e Sacarose – S (%m/m).

2.5.3 Elaboração de análogos de filé de peixe

Foi realizado um Planejamento experimental Plackett-Burman 12 (PB12) com 8 variáveis independentes (Proteína isolada de soja - PIS (%m/m)– x1; Proteína de ervilha – PE (%m/m)– x2; Farinha de aveia - FA (%m/m)– x3; Farinha de feijão branco - FFB (%m/m)– x4), Óleo de microalgas vegano - Ô3 (%m/m)– x5; Sacarose – S (%m/m)– x6; Tempo de tratamento térmico - TT (min); Tempo de ultrassom - TU (min) totalizando 12 tratamentos e 4 pontos centrais, conforme Tabela 3. abaixo: Foram analisadas as respostas: perfil de textura do análogo cru (dureza - y1; elasticidade – y2; coesividade – y3; gomosidade – y4; mastigabilidade – y5; resiliência – y6), perfil de textura do análogo após cocção (dureza – y7; elasticidade – y8; coesividade – y9; gomosidade – y10; mastigabilidade – y11; resiliência – y12), padrão de luminosidade e cromaticidade do análogo cru (L* - y13; a* - y14; b* - y15), padrão de luminosidade e cromaticidade do análogo após cocção (L* - y16; a* - y17; b* - y18), pH início fermentação – y19, pH final fermentação – y20, produção de EPS (g/L) – y21, crescimento Log (UFC/g) – y22, proteína em base úmida (%) – y23, aparência (sensorial) – y24, aroma (sensorial) – y25, textura (sensorial) – y26, sabor (sensorial) – y27, fração total de defeitos (sensorial) – y28.

Tabela 3. Relação de valores codificados e reais das variáveis independentes do planejamento experimental Plackett-Burman 12

Variáveis		Valores reais dos níveis		
		-1	0	1
Proteína isolada de soja - PIS (%m/m)	X1	0	4	8
Proteína de ervilha – PE (%m/m)	X2	0	4	8
Farinha de aveia - FA (%m/m)	X3	0	3	6
Farinha de feijão branco - FFB (%m/m)	X4	0	2	4
Óleo de microalgas vegano - OMA (%m/m)	X5	0	0,7	1,4
Sacarose – S (%m/m)	X6	0	5,35	10,7
Tempo de tratamento térmico - TT (min)	X7	10	15	20
Tempo do ultrassom - TU (min)	X8	0	10	20

Fonte: Autoral, 2023.

As formulações para o preparo e montagem dos análogos foi adaptada de Mazumder *et al.* (2023) e todas as amostras foram elaboradas seguindo as boas práticas de fabricação. Na Figura 6, é apresentado um fluxograma com todas as etapas realizadas para elaboração do análogo de filé de peixe.

A etapa inicial foi a de preparo da matéria-prima, que logo após o recebimento, consistiu na seleção, higienização e separação dos cogumelos *P. ostreatus* (hiratake). Dessa forma, inicialmente, os cogumelos maduros foram limpos com uso de papel toalha e pincel e em seguida foram separados em pôneis e estipes. As estipes foram então trituradas utilizando um mixer marca Walita, modelo RI1363, de duas formas diferentes, uma utilizando as facas do processador e outra o triturador. Após isso, foram adicionadas de 0,02% m/m de tripolifosfato de sódio e após homogeneização, foram armazenadas sob refrigeração.

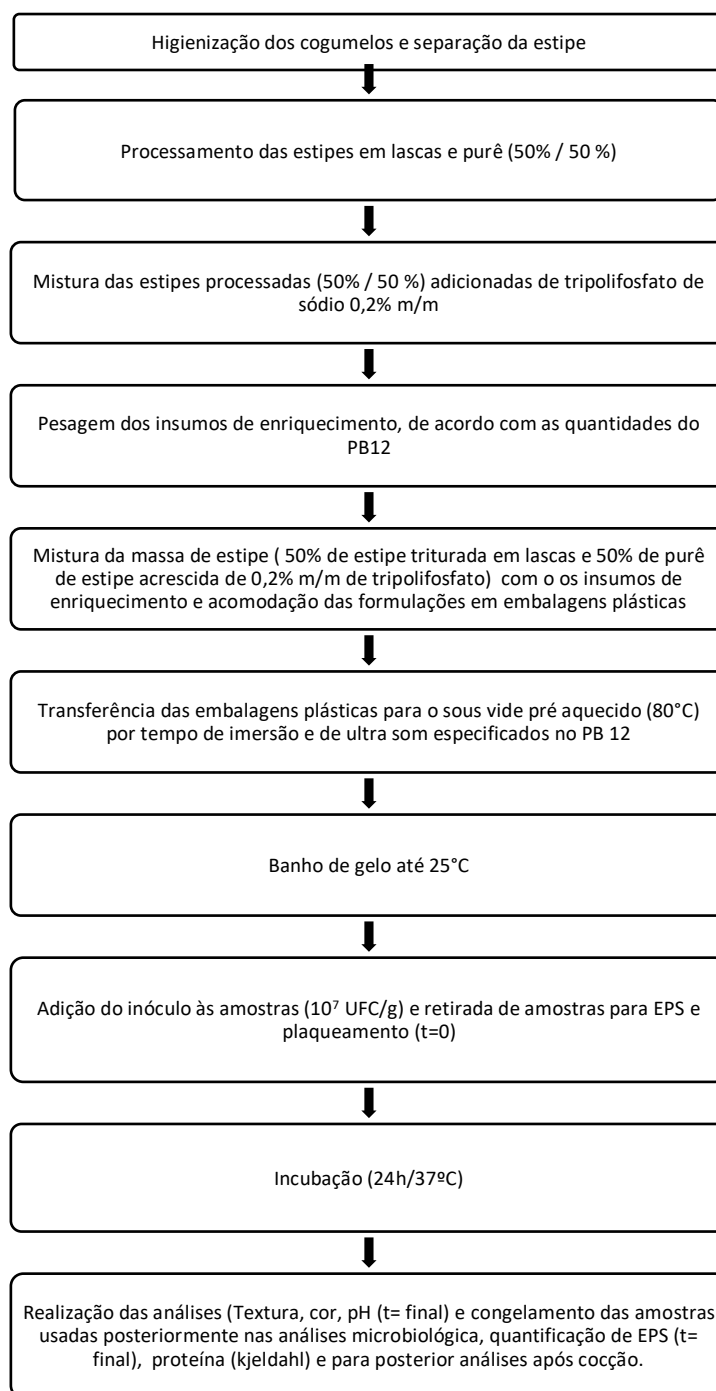
Cada tratamento foi realizado em quadruplicata com base de cálculo 100 g por molde e as estipes adicionadas de tripolifosfato de sódio foram colocadas para completar a quantidade total de cada ensaio de 100g. Os ingredientes foram pesados separadamente e misturados, sendo: Proteína isolada de soja - PIS, Proteína de ervilha – PE, Farinha de aveia - FA, Farinha de feijão branco - FFB, Óleo de microalgas (Ômega 3) vegano - Ô3 e Sacarose – S. Após mistura dos ingredientes nos níveis estipulados pelo Plackett-Burman 12 (Tabela 3), foi somada a massa de cogumelos previamente pesada e feita a homogeneização por 5 min.

A mistura foi transferida para embalagens plásticas de fechos herméticos e foi retirado o ar dos sacos plásticos, que em seguida foram fechados e levados ao banho sous vide. Para o branqueamento foi fixada a temperatura de 80°C, determinada conforme descrito nos itens 3.4 e 3.5 e foram variados os tempos (10, 15 ou 20 min) de acordo com o PB12. Após o tratamento térmico, as embalagens plásticas foram colocadas em banho de gelo até atingir 25 °C.

Os tratamentos foram transferidos, dentro da capela de fluxo laminar, das embalagens plásticas para potes de vidro retangulares com tampa hermética, ambos previamente esterilizados (121°C/15min) e os tratamentos foram então inoculados com *W. cibaria* pré ativado, com concentração inicial de 10^7 UFC/g. Os potes foram deixados em incubadora a 37°C/24h.

As análises de textura, cor e pH foram realizadas imediatamente após o final da fermentação e as amostras separadas para realização das análises microbiológica, de EPS e de proteína foram congeladas até a realização das mesmas.

Figura 6. Fluxograma de processamento de análogo de filé de peixe



Fonte: Autoral, 2023.

As amostras separadas para a análise de cocção foram descongeladas em refrigeração 1h antes dos testes, e assadas em forno industrial por 20 min a 180 °C.

Os resultados foram analisados utilizando-se o software STATISTICA 10.0 (StatSoft, 2010).

2.5.3.1 Textura e medição de cor

O perfil de textura e os parâmetros de luminosidade e cromaticidade dos análogos e dos filés de tilápia crus e após a cocção, foram determinados conforme descrito nos itens 2.3.1 e 2.3.2 respectivamente.

2.5.3.2 Medição do pH

O pH dos análogos foi determinado logo após a homogeneização dos insumos de cada tratamento (tempo inicial) e logo após o término da fermentação (tempo final). As medições foram realizadas usando-se potenciômetro portátil (HI 99163, Hanna Instruments), previamente higienizado com água destilada e calibrado com soluções tampão 7 e 4.

2.5.3.3 Análise de Exopolissacarídeos (EPS)

2.5.3.3.1 Extração do EPS Bruto

Para a quantificação de EPS, cada 1g da massa fermentada foi adicionada de sete volumes de água e submetida à agitação a 250 rpm por 2 h. Em seguida, as partículas sólidas foram removidas por filtração usando filtro de papel. Posteriormente, cada mL de amostra, foi adicionado de 0,01 mL de ácido cítrico 1M, seguido de centrifugação a 9640 g durante 10 min/5 °C para remoção de células e proteínas (MONDRAGÓN-BERNAL *et al.*, 2007).

O sobrenadante obtido na separação de células foi aquecido a 100°C por 10 min para inativação das enzimas presentes e centrifugado 2500g por 20min. Os EPS foram precipitados do sobrenadante adicionando-se 5 volumes de etanol absoluto resfriado e mantido durante 24h a 4°C. Posteriormente centrifugou-se a 2500g por 20min e o precipitado foi dissolvido novamente com mais 2 volumes de etanol resfriado e mantidos por mais uma noite a 4°C. Após isso, centrifugou-se novamente a 2500g por 20min, retirou-se o sobrenadante e o pellet foi redissolvido em água destilada (1,0mL) (Metodologia adaptada de MONDRAGÓN-BERNAL *et al.*, 2007).

2.5.3.3.2 Quantificação de EPS pelo Método de Antrona

Em tubo de ensaio, adicionaram-se 4 mL do reativo de Antrona (0,2 g/100 mL de H₂SO₄) e 1 mL de amostra previamente diluída (0,01-0,1 g/L). Incubaram-se os tubos em banho-maria em ebulição durante 10 minutos e resfriaram-se em banho com gelo. As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro a 600 nm (Silva, 2003). A curva padrão foi feita utilizando-se dextrana de massa molecular 9300 Da (Metodologia adaptada de MONDRAGÓN-BERNAL *et al*, 2007).

A quantidade de EPS produzido, foi calculada subtraindo-se a quantificação feita ao final da fermentação (tempo final) da amostra colocada para fermentar (tempo inicial).

2.5.3.4 Crescimento celular

Para determinação do número de células viáveis dos protótipos foi realizado o plaqueamento em profundidade (*pour-plate*).

Logo após a inoculação dos ensaios fez-se, ainda dentro da capela de fluxo laminar, a retirada de uma alíquota de cada tratamento (tempo inicial). As amostras foram armazenadas em tubo Falcon de 15mL previamente autoclavados e identificados que foram congelados até a realização das análises. O mesmo procedimento foi repetido ao final da fermentação, para um ensaio de cada tratamento (tempo final).

O plaqueamento foi realizado partindo-se da diluição de 1,5g das amostras armazenadas em 13,5mL de água peptonada 0,1% (m/v) estéril (121 °C/15 min). Em seguida, 1mL de cada diluição foi transferida, em duplicata, para placas de petri autoclavadas, nas diluições 10⁻⁴ e 10⁻⁵ (tempo inicial) e 10⁻⁶, 10⁻⁷ e 10⁻⁸ (tempo final) que foram então acrescidas de Ágar MRS + 0,1% de azul de anilina estéril. As placas devidamente identificadas, foram envoltas em plástico filme e armazenadas em incubadora a 37°C/48 horas. Após decorrido o tempo de incubação, foi realizada a contagem das placas e os resultados foram expressos em Log UFC/mL e o crescimento celular foi calculado subtraindo-se os resultados obtidos no tempo final do tempo inicial da fermentação.

2.5.3.5 Proteína em base úmida

O teor de proteína dos análogos foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC 920.87, 2005) e os resultados foram expressos em base úmida.

A determinação do conteúdo de proteína bruta presente nos tratamentos foi feita multiplicando o valor do nitrogênio total por fatores de conversão.

$$\% \text{ proteína} = \% \text{ nitrogênio total} \times F \text{ (1)}$$

Onde,

F = fator de conversão da relação nitrogênio/proteína.

O cálculo foi realizado multiplicando-se como fator de conversão o resultado da média ponderada da quantidade adicionada de cada insumo, conforme PB12, usando-se para, PIS, PE, FA, FFB o fator de conversão 6,25 e para cogumelo 4,38. Ou seja, o fator de conversão variou entre 3,92 e 4,75, dependendo da composição proteica de cada tratamento.

2.5.3.6 Avaliação sensorial dos protótipos

A avaliação sensorial foi realizada após prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) com seres humanos da UFLA (Parecer nº: 5.552.956 de 29/07/2022 e Certificado de Apresentação de Apreciação Ética - CAAE: 60509622.7.0000.5148) (APÊNDICE B). Todas as amostras servidas estavam de acordo com o padrão para *E. coli* da IN 161/2022 da ANVISA, constatada pela metodologia da 992.30 (AOAC, 2000) utilizando o kit de teste da ColiComplete® da Merck. Os tubos foram examinados sob luz ultravioleta de onda longa (366 nm). Tubos fluorescentes indicam resultado positivo para *E. coli*. Todas as amostras servidas no teste sensorial tiveram resultado negativo para *E. coli*.

A avaliação sensorial, realizada com o intuito de escolher os melhores protótipos do PB12, foi realizada com 7 provadores voluntários não treinados, de ambos os sexos, membros do grupo de pesquisa e/ou frequentadores da UFLA. A análise sensorial foi realizada com metodologias adaptadas de Mondragón-Bernal *et al.* (2011). As amostras do PB12 foram preparadas, descongeladas em refrigeração 1h antes dos testes, fritas por imersão em óleo de soja a 180 °C. Em seguida foram retiradas, colocadas em folhas de papel absorvente, cortadas em cubos de 2 cm e servidas a uma temperatura entre 40-45 °C.

Foram entregues aos participantes, fichas de avaliação sensorial (APÊNDICE C) contendo a identificação dos atributos aparência, aroma, sabor e textura e campos para avaliação descritiva das amostras provadas, junto da marcação positiva ou negativa e o campo de indicação caso a amostra fosse considerada viável a ser conduzida para a análise sensorial.

Cada provador recebeu 13 amostras codificadas, todos os tratamentos do PB12 e o ponto central (PC), servidas em três etapas, com 3 números aleatórios (apresentação monádica) juntamente com a ficha de avaliação. As amostras foram servidas em copos descartáveis brancos e os provadores foram instruídos a beberem água para enxaguar o palato e mastigarem bolacha água e sal entre a degustação das amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Quantificação de enterobactérias dos cogumelos *hiratake in natura*

A legislação vigente, IN 161/2022 da ANVISA, determina para fungos comestíveis "In natura", ausência de *Salmonella*/25g e limite máximo de 10^3 para *Escherichia coli*/g.

Dessa forma, a contagem de 3,08 UFC/g, obtida na análise de enterobactérias, classe que engloba entre outros, os gêneros especificados pela legislação, quantificou a carga microbiana do cogumelo *hiratake in natura*, sem nenhum tipo de tratamento térmico e expressou resultados satisfatórios uma vez que além dos gêneros citados engloba outros gêneros de patógenos e resultou em valor ínfimo em relação ao exposto para *E. coli* na instrução normativa.

Reyes *et al.* (2004) analisaram trinta amostras comerciais de *P. ostreatus* adquiridas em supermercados, lojas e quitandas de Saragoça, na Espanha e relataram 2,88 UFC/g de amostra, resultado condizente com o encontrado no estudo tratando-se de matérias primas in natura.

Outro estudo realizado em 2019, avaliou a presença de *Salmonella sp.* e *Escherichia coli* em cogumelos *P. ostreatus* comercializados na zona centro-sul de Manaus e apontaram contaminação de *salmonella* entre 1×10^2 UFC/g e 17×10^2 UFC/g em todas as amostras avaliadas e presença de *E. coli*. entre 4×10^1 e 6×10^1 UFC/g em três das vinte amostras analisadas, ambos os resultados superiores à contagem de enterobactérias obtida neste estudo (Lamongi *et al.*, 2019).

3.2 Avaliação do branqueamento

Na Tabela 4 são apresentadas as respostas do PB8 obtidas das análises de perfil de textura (dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade, resiliência), e na Tabela 5 as respostas para padrão de luminosidade e cromaticidade (L^* , a^* e b^*) e redução da atividade enzimática (PPO E POD) do píleo de *P. ostreatus*.

Tabela 4. Respostas dos tratamentos térmicos do PB8 para perfil de textura do píteo dos cogumelos de *P. ostreatus*

Trat.	T(°C)	t (min)	AC (%m/v)	Bic (%m/v)	Dureza (g)	Elasticidade (mm)	Coesividade (mm)	Gomosidade	Mastigabilidade (g)	Resiliência
1	80	1	0	1	668	0,65	0,60	395	255	0,26
2	80	7	0	0	778	0,68	0,57	444	304	0,33
3	80	7	1	0	697	0,65	0,57	394	262	0,27
4	40	7	1	1	374	0,91	0,79	295	267	0,45
5	80	1	1	1	688	0,71	0,59	399	281	0,28
6	40	7	0	1	398	0,91	0,78	311	284	0,47
7	40	1	1	0	353	0,75	0,73	255	199	0,27
8	40	1	0	0	545	0,88	0,74	404	358	0,43
9	60	4	0,5	0,5	958	0,69	0,55	519	353	0,32
10	60	4	0,5	0,5	374	0,66	0,63	236	160	0,30
11	60	4	0,5	0,5	883	0,72	0,62	534	380	0,31
Píteo <i>in natura</i>					625	0,87	0,75	625	408	0,49
Filé de tilápia <i>in natura</i>					2060	0,49	0,41	2060	390	0,15

T=Temperatura; t=Tempo; AC=Ácido cítrico; Bic=Bicarbonato. Fonte: Autoral, 2023.

Tabela 5. Respostas dos tratamentos térmicos do PB8 para luminosidade e cromaticidade (L*; a*; b*) e redução da atividade enzimática (PPO e POD)

Trat.	T(°C)	t (min)	AC (%m/v)	Bic (%m/v)	L*	a*	b*	Redução da atividade PPO (%)	Redução da atividade POD (%)
1	80	1	0	1	61	0,98	14	68	84
2	80	7	0	0	61	1,38	17	81	96
3	80	7	1	0	68	2,10	18	80	97
4	40	7	1	1	65	0,53	15	58	77
5	80	1	1	1	65	1,52	18	58	83
6	40	7	0	1	63	0,35	15	60	80
7	40	1	1	0	60	1,23	15	70	86
8	40	1	0	0	69	0,67	15	46	70
9	60	4	0,5	0,5	74	0,65	13	53	81
10	60	4	0,5	0,5	65	2,00	16	52	77
11	60	4	0,5	0,5	65	1,03	17	46	55
Píleo <i>in natura</i>					71	2,33	17	-	-
Filé de tilápia <i>in natura</i>					54	3,54	12	-	-

Fonte: Autoral, 2023

O branqueamento pode causar geração indesejável de cor ou sabor e amolecimento de produtos vegetais (MOON *et al.*, 2020). Sabendo das modificações que podem ocorrer no produto, utilizou-se com padrão de comparação pílco sem tratamento térmico. Além disso, também foram analisadas amostras de tilápia *in natura*.

A dureza refere-se à força necessária para comprimir um alimento até atingir determinada deformação ou ruptura. Na análise sensorial é a facilidade ou dificuldade com que um alimento é mastigado. Verificou-se que os valores de dureza variaram entre 353 g (tratamento 7) a 958 g (tratamento 9), sendo o primeiro inferior e o segundo superior ao obtido para pílco *in natura* (623 g). Pelos resultados, verifica-se que os valores de dureza dos cogumelos branqueados ficaram bem abaixo do valor de filé de peixe *in natura*.

A elasticidade indica a capacidade de um alimento retornar à forma original após a aplicação de uma força. Para este parâmetro, os resultados obtidos para o pílco de *P. ostreatus* variaram entre 0,65 mm (tratamentos 1 e 3) e 0,91 mm (tratamento 4 e 6). Todos os tratamentos apresentaram elasticidade superior ao do filé de tilápia (0,49 mm). Observou-se que os tratamentos 4, 6, 8 e 11 apresentaram um valor superior para este parâmetro quando comparados ao pílco *in natura* (0,87 mm).

A coesividade representa a capacidade do alimento de manter sua estrutura quando submetido à força, ou seja, é a força necessária para desintegrar a massa do alimento até que atinja o ponto de deglutição. A coesividade do pílco variou de 0,55 (tratamento 9) e 0,79 (tratamento 4). Para todos os tratamentos o parâmetro analisado foi superior ao observado em filé de tilápia (0,45). Quando comparados ao pílco *in natura*, somente os tratamentos 4 e 6 apresentaram coesividade superior.

Gomosidade é a quantidade de energia (g) necessária para mastigar e quebrar o alimento em pedaços pequenos. Para todos os resultados, que variaram de 236 (tratamento 10) a 534 (tratamento 11), o valor da gomosidade foi inferior ao do pílco *in natura* (625) e muito inferior ao do filé de tilápia *in natura* (2060). Alimentos com alta gomosidade podem ser difíceis de mastigar e requer esforço para serem quebrados.

A mastigabilidade é uma das características sensoriais relacionadas à textura de alimentos e refere-se à facilidade com que um alimento pode ser mastigado e preparado para a deglutição. É um aspecto importante na aceitação e na preferência dos consumidores por certos alimentos. A mastigabilidade dos píleos branqueados foi inferior ao do pílco e do filé de tilápia *in natura*, variando entre 199 g/mm (tratamento 7) e 380, g/mm (tratamento 3), tendo valores

inferiores aos de filé de tilápia crua (390 g/mm). Esses valores mostram que os cogumelos são mastigados mais facilmente para ser deglutido do que os filés de tilápia.

Resiliência é a medida da capacidade de um alimento de retornar ao seu estado inicial depois de sofrer deformação durante a mastigação ou compressão e seus valores variaram de 0,26 (tratamento 1) a 0,47 (tratamento 6). Todos os tratamentos obtiveram um maior valor que o obtido pelo filé de tilápia *in natura* (0,15) e inferior ao obtido pelo pílco *in natura* (0,49). Os resultados mostram que o filé de tilápia retorna mais facilmente ao estado inicial do que todos os tratamentos, quanto o pílco *in natura*.

Na avaliação do padrão de luminosidade e cromaticidade, o espaço de cor Lab* é amplamente empregado devido à distribuição equilibrada das cores. Sua notável uniformidade é perceptível, visto que a diferença euclidiana entre duas tonalidades distintas se aproxima da variação percebida pelo olho humano (LEÓN *et al*, 2006).

Como apresentado na Tabela 5, os valores de L* encontrados para o pílco tratado por branqueamento variaram de 60 (tratamento 7) a 74 (tratamento 9). Para o filé de tilápia *in natura* foi obtido o valor de 54 e para o pílco *in natura* o valor de 71. Quanto maior o valor de L*, mais clara é a amostra (CIE, 1986), portanto, a luminosidade dos tratamentos é maior que do filé de tilápia e o tratamento térmico diminuiu a luminosidade do pílco quando comparado com o pílco *in natura*, com exceção do tratamento 9. Os resultados para parâmetro cromático a* variaram de 0,5 (tratamento 4) a 2,1 (tratamento 3), sendo 2,3 para o pílco *in natura* e 3,5 para o filé de tilápia. Valores positivos de a* indicam uma tendência do produto para uma coloração avermelhada (CIE, 1986), portanto os tratamentos têm uma coloração menos avermelhada do que o pílco *in natura* e do filé de tilápia. Os resultados para cromático b* variaram de 13 (tratamento 9) a 18 (tratamento 3), sendo o valor médio da tilápia de 12 e do pílco *in natura* de 17. O plano b* positivo indica que o produto tem tons amarelados (CIE, 1986), portanto, os resultados também mostraram que os tratamentos estão próximos ao observado para o filé de tilápia.

As mudanças indesejadas de cor nos cogumelos geralmente são resultadas do escurecimento enzimático. Este processo complexo é caracterizado pela oxidação dos fenóis, desencadeado pela ativação da tirosinase (LEI *et al.*, 2018). As polifenoloxidasas (PPO) abrangem a tirosinase, a catecoloxidase e a lacase, sendo a tirosinase uma enzima fundamental na produção de melanina, promovendo a oxidação de compostos fenólicos. Por outro lado, a

lacase provoca o surgimento de manchas castanhas ao oxidar difenóis em quinonas (NERYA *et al.*, 2006).

No que se refere à redução da atividade enzimática, para a polifenoloxidase, os tratamentos que apresentaram as menores reduções da atividade enzimática foram os tratamentos 8 e 11 (46%) e o que apresentou a maior redução foi o tratamento 2 (81%). Para a enzima peroxidase, o tratamento 11 (55%) apresentou a menor redução na atividade e o tratamento que apresentou a maior redução foi o 3 (97%).

Os efeitos das variáveis independentes sobre as respostas de perfil de textura, padrão de luminosidade e cromaticidade e atividade enzimática são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Efeitos das variáveis independentes sobre as respostas de perfil de textura, cor e atividade enzimática

		Interc.	T(°C)	t (min)	AC (%m/v)	Bic (%m/v)
Dureza (g)	Ef.	1295,6	290,5	-1,81	-69,69	-61,29
	Er.	504,5	1183,1	1183,1	1183,1	1183,1
	p	0,04	0,81	0,99	0,95	0,96
Elasticidade (mm)	Ef.	0,74	-0,19	0,04	-0,02	0,06
	Er.	0,02	0,05	0,05	0,05	0,05
	p	0,0	0,01	0,45	0,69	0,34
Coesividade (mm)	Ef.	1,0	-0,18	0,01	-0,004	0,04
	Er.	0,0	0,03	0,03	0,03	0,03
	p	0,0	0,001	0,65	0,91	0,24
Gomosidade	Ef.	794,3	92,0	-2,0	-53,0	-25,0
	Er.	296,3	695	695	695	695
	p	0,04	1,0	1,0	1,0	1,0
Mastigabilidade (g)	Ef.	561,3	-2,0	6,0	-48,0	-9,0
	Er.	199,9	469	469	469	469
	p	0,03	1,0	1,0	1,0	1,0
Resiliência	Ef.	0,30	-0,12	0,07	-0,06	0,03
	Er.	0,03	0,07	0,07	0,07	0,07
	p	0,0	0,14	0,35	0,46	0,64
L*	Ef.	63,2	-0,58	0,28	1,0	-0,91
	Er.	1,45	3,41	3,41	3,41	3,41
	p	0,0	0,87	0,94	0,78	0,80
a*	Ef.	1,15	0,80	-0,01	0,50	-0,50
	Er.	0,13	0,32	0,32	0,32	0,32
	p	0,0	0,04	0,98	0,16	0,16
b*	Ef.	16,2	1,66	0,69	1,42	-0,92
	Er.	0,42	0,99	0,99	0,99	0,99
	p	0,0	0,15	0,51	0,20	0,39
Redução da atividade PPO (%)	Ef.	61,18	13,43	9,16	2,76	-8,28
	Er.	3,59	8,43	8,43	8,43	8,43
	p	0,00	0,16	0,32	0,75	0,36
Redução da atividade POD (%)	Ef.	80,75	12,08	6,95	3,29	-6,04
	Er.	3,71	8,70	8,70	8,70	8,70
	p	0,00	0,21	0,45	0,72	0,51

T= Temperatura (°C); t = (min); AC = Ácido cítrico (%m/v); Bic = Bicarbonato de sódio (%m/v); Ef. = Efeito; Er. = Erro puro; p = p-valor. Fonte: Autoral, 2023

Nos parâmetros analisados do perfil de textura, a temperatura teve efeito significativo ($p < 0,1$) somente sobre as variáveis elasticidade e coesividade. Em ambas as variáveis dependentes a temperatura exerceu um efeito negativo, ou seja, em temperaturas menores, a elasticidade e coesividade dos cogumelos branqueados são maiores. Portanto, em menores temperaturas, o píleo do cogumelo tem mais facilidade em retornar à forma original.

Ao analisar os efeitos das variáveis independentes sobre as coordenadas cromáticas da análise de cor, somente em a^* houve um efeito significativo ($p < 0,1$), sendo ele da temperatura. A temperatura exerceu um efeito positivo sobre a^* , isso significa que, quanto maior a temperatura, mais a coordenada cromática (a^*) aumenta, ou seja, mais para o vermelho fica a coloração do cogumelo no processo de branqueamento.

Em relação à atividade enzimática, não houve efeito significativo ($p < 0,1$) das variáveis independentes sobre a redução da atividade da polifenoloxidase e sobre a redução da atividade da peroxidase (%). A variável que mais se aproximou da significância e com efeito positivo foi a temperatura, $p = 0,16$ para redução de PPO e $p = 0,21$ para redução de POD.

3.3 Otimização do branqueamento

Dentre os tratamentos analisados pelo PB8, o tratamento 2, apresentou uma maior diminuição da atividade de polifenoloxidase, por tanto foi realizada a otimização do branqueamento avaliada em três tempos (7, 10 e 13 minutos) no processo de branqueamento (80°C, sem ácido cítrico e bicarbonato de sódio) sobre o perfil de textura, cor e redução da atividade enzimática. Os resultados são apresentados na Tabela 7 a seguir.

Tabela 7. Efeito do tempo de branqueamento sobre perfil de textura, padrão de luminosidade/cromaticidade e atividade enzimática de pílco de *P. ostreatus*

	Tempo (min)		
	7	10	13
Dureza (g)	4677 ± 1143 ^a	3554±87 ^a	3291±596 ^a
Elasticidade (mm)	0,62 ± 0,02 ^a	0,57 ± 0,01 ^b	0,54 ± 0,01 ^b
Coesividade (mm)	0,54 ± 0,02 ^a	0,47 ± 0,01 ^b	0,46 ± 0,00 ^b
Gomosidade	2529 ± 668 ^a	1669 ± 56 ^b	1524 ± 268 ^b
Mastigabilidade (g)	1584 ± 451 ^a	945 ± 40 ^{ab}	823 ± 123 ^b
Resiliência	0,24±0,00 ^a	0,22±0,01 ^{ab}	0,21±0,01 ^b
L*	58±3 ^a	57 ± 0,6 ^a	59 ± 1 ^a
a*	2,6 ± 1,0 ^a	2,1 ± 0,8 ^a	1,7 ± 0,2 ^a
b*	19 ± 2 ^a	17 ± 2 ^a	18 ± 1 ^a
Redução atividade PPO (%)	74 ± 2 ^b	82,6 ± 0,8 ^a	76 ± 3 ^b
Redução atividade POD (%)	84 ± 1 ^b	91 ±0,6 ^a	86 ± 2 ^b

Média± desvio padrão (n=3). Médias na mesma linha seguidas por diferentes letras maiúsculas são estatisticamente diferentes ($\alpha= 5\%$). Fonte: Autoral, 2023

Não houve diferença estatisticamente significativa ($\alpha= 5\%$) entre os tempos analisados nos parâmetros dureza, L*, a* e b*, contudo a dureza do cogumelo *in natura* aumentou de 625 (g) para 3554 (g) após 10 minutos de branqueamento e a luminosidade diminui de 71 para 57.

No que se refere aos parâmetros de textura: elasticidade, coesividade, gosmosidade, mastigabilidade e resiliência, o tempo de 10 e 13 minutos apresentaram os menores valores e não apresentaram diferença entre si ($\alpha= 5\%$).

Para as duas enzimas, no tempo de 10 min, foram obtidas as maiores reduções de atividade enzimática, para PPO e POD respectivamente e com diferença significativa ($\alpha= 5\%$) para os demais tempos aplicados.

Após a colheita, os vegetais se tornam suscetíveis à atividade da PPO, sendo reconhecido o seu papel na indução de reações de escurecimento, acarretando na deterioração e perda de qualidade dos alimentos. Assim, a inativação ou redução da atividade das PPO é

crucial para o controle desses processos indesejados na indústria de alimentos vegetais. (CHITARRA; CHITARRA, 2003). Com isso, foi otimizado o branqueamento dos cogumelos *P. ostreatus* para a condição 80°C/10 min.

Na Tabela 8, são apresentados os resultados para perfil de textura (dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade, resiliência), padrão de luminosidade e cromaticidade (L^* , a^* , b^*) e redução da atividade enzimática (PPO e POD) para tratamento térmico em estipes de *P. ostreatus*.

Tabela 8. Efeito do tempo de branqueamento a 80°C sobre perfil de textura, padrão de luminosidade/cromaticidade e atividade enzimática de estipes trituradas de *P. ostreatus*

	Tempo (min)			
	Controle	7	10	13
Dureza (g)	149±23 ^c	306±16 ^a	294±30 ^a	223±21 ^b
Elasticidade (mm)	0,44±0,02 ^b	0,49±0,02 ^a	0,49±0,01 ^a	0,46±0,03 ^{ab}
Coesividade (mm)	0,41±0,01 ^a	0,45±0,01 ^a	0,45±0,03 ^a	0,42±0,01 ^a
Gomosidade	61±10 ^c	137±9 ^a	132±7 ^a	94±8 ^b
Mastigabilidade (g)	27±6 ^c	68±5 ^a	64±5 ^a	43±5 ^b
Resiliência	0,08±0,01 ^b	0,10±0,01 ^a	0,10±0,00 ^a	0,09±0,00 ^{ab}
L^*	70±0,1 ^b	71±0,5 ^a	71±0,5 ^a	70±0,2 ^b
a^*	1,5±0,1 ^a	0,8±0,1 ^b	0,8±0,1 ^b	0,8±0,1 ^b
b^*	19±0,2 ^a	16±0,3 ^b	16±0,2 ^b	16±0,1 ^b
Atividade PPO (u.E/min)/g de tecido	80±3 ^a	31±4 ^b	35±14 ^b	18±4 ^b
Atividade POD (u.E/min)/g de tecido	185±11 ^a	54±12 ^b	58±24 ^b	30±7 ^b

Média± desvio padrão (n=3). Médias na mesma linha seguidas por diferentes letras maiúsculas são estatisticamente diferentes ($\alpha= 5\%$). Fonte: Autoral, 2023.

Não houve diferença significativa ($\alpha= 5\%$) entre os tempos analisados na estipe triturada no parâmetro de coesividade do perfil de textura. Para os parâmetros dureza, elasticidade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência o tempo de 7 minutos apresentou os

maiores valores de 306; 0,49; 0,45; 137; 68, respectivamente. Para todos estes parâmetros, não houve diferença significativa ($\alpha= 5\%$) comparado com o tempo de 10 minutos e houve diferença significativa para o controle, tratamento este que apresentou os menores valores (149; 0,44; 0,41; 61; 27 e 0,08, respectivamente).

Para o padrão de luminosidade/cromaticidade, para o parâmetro L^* , o tratamento de 7 minutos (71) se diferenciou do controle (70) e 13 minutos (70) mas não se diferenciou de 10 minutos (71), que também se diferenciou ($\alpha= 5\%$) do controle, o que significa que somente os tratamentos de 7 e 10 minutos teve aumento significativo da luminosidade. Em relação ao parâmetro a^* , todos os tratamentos se diferenciam ($\alpha= 5\%$) do controle (1,46), sendo que houve uma diminuição dos valores do parâmetro de todos os tempos (7, 10 e 13) analisados. O comportamento oposto foi observado no parâmetro b^* , em que o maior valor foi obtido no tratamento controle (19) e os demais tratamentos (7, 10 e 13) os valores foram de 16; que se diferenciaram do controle e não se diferenciaram entre si ($\alpha= 5\%$).

Para as duas enzimas, em todos os tempos analisados, houve uma redução significativa ($\alpha= 5\%$) da atividade enzimática quando comparadas ao controle e ambas não se diferenciaram entre si, apesar de que no tempo 13 min, os valores obtidos para as atividades enzimáticas foram mais baixos.

Cheng, Zhang e Adhikari (2013) observou que ao estudar a inativação do polifenol oxidase de cogumelo (*Agaricus bisporus*) entre 55 e 75°C, quando foi aplicado o tratamento térmico a 75°C durante 4 min, a enzima foi completamente inativada.

Já Vullioud, Rusalen e De Michelis (2011) ao estudar o processo de branqueamento (70 – 100°C) em *Pleurotus ostreatus*, observaram que um tempo de 15 segundo foram suficientes para inativar a completamente a peroxidase. O que diferencia o trabalho destes autores com o presente trabalho, é que os autores realizaram o branqueamento por imersão direta dos cogumelos em água, o que facilita a transferência de calor e consequentemente a inativação enzimática e por tanto é requerido um menor tempo de branqueamento.

Por isso, concluiu-se que o tempo de 10 minutos utilizado no branqueamento do píleo, também pode ser aplicado na estipe triturada de *P. ostreatus*. Estes resultados corroboram com o fato de que podem ser empregadas as mesmas condições do tratamento térmico (80°C e 10 min) no uso em conjunto do píleo e da estipe.

3.4 Avaliação dos análogos a filé de peixe

Na Tabela 9 são apresentadas as respostas do PB12 obtidas das análises de perfil de textura (dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade, resiliência) para as amostras cruas e após a cocção dos análogos.

Tabela 9. Respostas do PB12 para perfil de textura das amostras cruas e após cocção

Trat.	PIS	PE	FA	FFB	Ô3	S	TT	TU	Dur.		Elas. (mm)		Coes. (mm)		Gomos.		Mast. (g)		Resil.	
	(%m/ m)	(%m/ m)	(%m/ m)	(%m/ m)	(%m/ m)	(%m/ m)	(min)	(min)	Cru	Coc.	Cru	Coc.	Cru	Coc.	Cru	Coc.	Cru	Coc.	Cru	Coc.
1	8	0	6	0	0	0	20	20	133	605	0,44	0,37	0,34	0,33	45	197	20	73	0,044	0,098
2	8	8	0	4	0	0	10	20	234	1618	0,35	0,43	0,31	0,29	72	466	26	205	0,049	0,088
3	0	8	6	0	1,4	0	10	0	200	678	0,32	0,5	0,29	0,29	58	196	19	99	0,043	0,092
4	8	0	6	4	0	10,7	10	0	278	1791	0,48	0,51	0,39	0,3	108	534	51	275	0,047	0,097
5	8	8	0	4	1,4	0	20	0	340	1609	0,28	0,41	0,26	0,27	88	439	25	181	0,053	0,085
6	8	8	6	0	1,4	10,7	10	20	206	1650	0,42	0,44	0,36	0,33	74	538	32	235	0,048	0,099
7	0	8	6	4	0	10,7	20	0	236	1926	0,54	0,54	0,44	0,4	105	747	58	396	0,042	0,14
8	0	0	6	4	1,4	0	20	20	103	1062	0,59	0,39	0,44	0,36	45	380	27	152	0,037	0,125
9	0	0	0	4	1,4	10,7	10	20	78	1067	0,39	0,51	0,34	0,39	26	419	10	213	0,046	0,139
10	8	0	0	0	1,4	10,7	20	0	162	1841	0,28	0,64	0,28	0,47	45	853	13	547	0,053	0,153
11	0	8	0	0	0	10,7	20	20	167	1848	0,29	0,64	0,28	0,46	47	864	14	566	0,054	0,168
12	0	0	0	0	0	0	10	0	120	681	0,3	0,79	0,29	0,6	35	408	10	324	0,068	0,241
13	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	229	1124	0,42	0,48	0,34	0,36	77	396	32	197	0,043	0,119
14	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	240	1264	0,35	0,4	0,3	0,28	72	357	25	148	0,048	0,086
15	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	224	1172	0,33	0,35	0,29	0,27	66	323	22	123	0,045	0,087
16	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	229	1269	0,35	0,4	0,31	0,3	71	376	25	153	0,047	0,098
Tilápia									2060	1507	0,49	0,57	0,41	0,37	799	560	390	318	0,15	0,11

Dur.= Dureza; Elas.=Elasticidade; Coes.=Coesividade; Gomos.=Gomosidade; Mast.=Mastigabilidade; Resil.=Resiliência; Trat.=Tratamento; Coc.=Após a cocção. Fonte: Autoral, 2023.

O principal desafio na elaboração de um produto análogo à carne consiste em reproduzir a aparência, textura, sabor, palatabilidade e funcionalidade desses produtos, utilizando exclusivamente ingredientes provenientes de fontes vegetais e/ou microbianas, como proteínas, carboidratos e lipídios. As propriedades moleculares, químicas e físicas dos ingredientes de origem vegetal e microbiana geralmente divergem significativamente das encontradas em ingredientes de origem animal. Assim, compreender as propriedades fundamentais dos componentes derivados de plantas e de microrganismos, a maneira como podem ser combinados para formar estruturas semelhantes aos presentes em produtos de origem animal é essencial (MCCLEMENTS; GROSSMANN, 2021).

Os resultados revelaram uma variação nos valores de dureza para amostra crua, entre 78 g (tratamento 9) e 340 g (tratamento 5). Após a cocção, os valores oscilaram entre 605 g (tratamento 1) e 1926 g (tratamento 7). A dureza dos análogos crus para todos os tratamentos foi inferior à da tilápia *in natura* (2060 g). Entretanto, a dureza dos análogos cozidos para os tratamentos 2, 4, 5, 6, 7, 10 e 11 foi superior à dureza do filé frito de tilápia (1507 g).

Para elasticidade os resultados variaram entre 0,28 (tratamento 5 e 10) e 0,59 (tratamento 8), nas amostras cruas e entre 0,35 (tratamento 15) e 0,79 (tratamento 12) após a cocção. Na comparação entre os tratamentos crus e o filé de tilápia *in natura* (0,49), somente os tratamentos 7 e 8 apresentaram elasticidade superior ao do filé. Similarmente, na comparação entre os tratamentos submetidos à cocção, somente os tratamentos 10, 11 e 12 foram superiores à elasticidade apresentada pelo filé de tilápia frito (0,57).

A coesividade dos tratamentos antes da cocção variou de 0,28 (tratamentos 10 e 11) a 0,44 (tratamentos 7 e 8), sendo somente estes dois últimos superiores ao apresentado no filé de tilápia *in natura* (0,41). Após a cocção, houve uma variação do parâmetro analisado entre 0,27 (tratamento 15) e 0,60 (tratamento 12). Quando comparados ao filé frito (0,37), os tratamentos 7, 9, 10, 11 e 12 demonstraram coesividade superior.

No que diz respeito à gomosidade, para as amostras cruas, variou de 26 (tratamento 9) a 108 (tratamento 4), todos os resultados foram inferiores ao filé de tilápia *in natura* (799). Para amostras após a cocção, os valores variaram de 196 (tratamento 3) a 864 (tratamento 11), quando comparados ao filé frito (560), os tratamentos 7, 10 e 11, apresentaram valores superiores para o parâmetro analisado.

A mastigabilidade de todas as amostras cruas foi consideravelmente inferior ao apresentado pelo filé de tilápia *in natura* (390), variando entre 10 (tratamento 9 e 12) e 58 (tratamento 7). Para amostras após a cocção, os tratamentos 7, 10, 11 e 12 apresentaram valores superiores ao obtido pelo filé de tilápia frito (318), sendo que os valores dos tratamentos variaram de 73 (tratamento 1) a 566 (tratamento 11).

Do mesmo modo, quanto à resiliência, todas as amostras cruas apresentaram valores inferiores ao do filé de tilápia *in natura* (0,15), variando entre 0,037 (tratamento 8) e 0,068 (tratamento 12). Quanto às amostras submetidas à cocção, houve uma variação dos valores de resiliência entre 0,085 (tratamento 5) e 0,241 (tratamento 12), sendo que os tratamentos 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 apresentaram valor superior ao do filé frito (0,11).

Nos parâmetros de textura, especialmente a dureza, gomosidade, mastigabilidade e resiliência dos análogos, apresentaram significativas reduções quando comparados aos parâmetros do filé de tilápia. Apenas os tratamentos 7 e 8, para os produtos crus, apresentaram valores superiores para elasticidade e coesividade. Já para o produto após a cocção, alguns tratamentos apresentaram valores superiores quando comparados ao filé de tilápia frito, especialmente os tratamentos 7, 10 e 11.

No desenvolvimento de alternativas de carnes à base de proteínas vegetais, um dos principais desafios é fabricar produtos com estrutura anisotrópica fibrosa, que faça com que sua textura e características sensoriais sejam semelhantes às da carne real (ZHANG *et al.*, 2022).

Na Tabela 10 são apresentadas as respostas do PB12 para luminosidade e cromaticidade (L*, a*, b*) antes e após a cocção, pH antes e após a fermentação, quantidade de exopolissacarídeos produzidos na fermentação, crescimento microbiano e porcentagem proteína nos análogos de *P. ostreatus*.

Tabela 10. Respostas do PB12 para cor das amostras cruas e após a cocção, pH no início e após a fermentação, crescimento, EPS e proteína

Trat.	PIS	PE	FA	FFB	Ô3	S	TT	TU	L*		a*		b*		pHi	pHf	ΔpH	EPS	Log	Prote
	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(%m/m)	(min)	(min)	Cru	Coc.	Cru	Coc.	Cru	Coc.				(g/L)	(UF C/g)	ína (%)
1	8	0	6	0	0	0	20	20	66	56	5,1	7,0	23	26	6,4	4,9	1,5	0,4	3,3	9,8
2	8	8	0	4	0	0	10	20	63	52	5,3	6,0	22	20	6,7	5,3	1,4	0,2	4,7	16,5
3	0	8	6	0	1,4	0	10	0	64	51	4,6	6,3	21	23	6,5	5,8	0,7	0,2	3,9	14,4
4	8	0	6	4	0	10,7	10	0	63	55	5,7	6,8	24	26	5,8	4,9	0,9	0,1	2,4	9,6
5	8	8	0	4	1,4	0	20	0	64	57	5,5	6,0	23	22	6,7	5,6	1,1	0,2	2,6	16,3
6	8	8	6	0	1,4	10,7	10	20	59	50	6,0	6,9	23	23	6,5	5,2	1,3	0,2	4,1	3,7
7	0	8	6	4	0	10,7	20	0	59	48	5,2	5,9	22	21	6,9	5,1	1,8	0	4,3	2,8
8	0	0	6	4	1,4	0	20	20	65	53	4,0	6,2	21	24	6,4	4,8	1,6	0,1	5,6	1,6
9	0	0	0	4	1,4	10,7	10	20	64	46	4,1	6,9	25	22	6,4	4,7	1,7	0,3	4,4	1
10	8	0	0	0	1,4	10,7	20	0	66	56	5,4	7,0	24	24	6,5	4,8	1,7	0,2	2,7	1,9
11	0	8	0	0	0	10,7	20	20	65	57	4,4	6,3	20	21	6,8	4,7	2,1	0,2	2,2	2,8
12	0	0	0	0	0	0	10	0	69	59	3,5	5,9	24	22	6,9	5,5	1,4	0,4	2,3	1,6
13	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	66	57	4,5	4,9	21	21	6,6	4,8	1,8	0,5	1,5	4,1
14	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	67	57	4,6	5,3	22	21	6,7	4,8	1,9	0,3	2,5	2,8
15	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	65	53	4,6	5,5	21	19	6,7	4,8	1,9	0,4	2,5	3,2
16	4	4	3	2	0,7	5,35	15	10	66	57	4,8	4,8	21	22	6,8	4,8	2	0,3	2	3,2
Tilápia									54	40	3,5	14,5	12	21	-	-		-	-	3,1

PIS= Proteína de soja isolada (%m/m); PE= Proteína de ervilha (%m/m); FA= Farinha de Aveia (%m/m) FFB= Farinha de feijão branco (%m/m); Ô3= Ômega 3 (%m/m); S= Sacarose (%m/m); TT= Tempo do tratamento térmico (min); TU= Tempo ultrassom (min); pHi=pH início da fermentação, pHf=pH final da fermentação, EPS=EPS produzido (g/L); Log=Crescimento *Weissella cibaria* Log UFC/g; Proteína=Proteína em base úmida (%); Trat.=Tratamento; Coc.=Após a cocção. Fonte: Autoral, 2023.

Conforme apresentado na Tabela 10, os valores de L^* das amostras cruas variaram de 59 (tratamento 6) a 69 (tratamento 12). A luminosidade (L^*) das amostras cruas foram superiores à obtida pelo filé de tilápia *in natura* (54). Para os tratamentos após a cocção, a luminosidade variou de 46 (tratamento 9) a 59 (tratamento 12), todos os tratamentos submetidos à cocção apresentaram L^* superiores à obtida pelo filé de tilápia frito (40).

Os resultados para parâmetro cromático a^* para os tratamentos crus variaram de 3,5 (tratamento 12) a 6,0 (tratamento 6), sendo 3,5 o valor obtido da análise de filé de tilápia *in natura*. No que se refere às amostras submetidas à cocção os valores de a^* variaram entre 4,8 (tratamento 16) a 7,0 (tratamento 1 e 10), sendo que no filé de tilápia frito o valor foi superior (14,5) aos tratamentos.

Os resultados para b^* variaram de 20 (tratamento 11) a 25 (tratamento 9), para amostras cruas e variaram de 19 (tratamento 15) a 26 (tratamento 1) após a cocção. Os valores de b^* obtidos para filé de tilápia *in natura* e filé de tilápia frito foram 12 e 21 respectivamente. Tais resultados mostram que b^* das amostras cruas foram superiores ao da tilápia *in natura* e das amostras após a cocção foram próximos ao do filé de tilápia frito. Na maioria das vezes é difícil reproduzir a mudança de cor que ocorre durante o cozimento em carnes (MAZUMDER *et al.*, 2023)

No que se refere ao pH antes e após a fermentação, os valores situaram-se entre 5,8 (tratamento 4) e 6,9 (tratamento 7 e 12) e entre 4,7 (tratamento 9 e 11) e 5,8 (tratamento 3), respectivamente, evidenciando que houve uma diminuição do pH após o processo fermentativo. A diminuição do pH causada pelo processo fermentativo de *Weissella cibaria* é um fenômeno comum em muitos alimentos, especialmente na fermentação láctica de produtos lácteos e vegetais. A redução do pH era esperado, uma vez que *Weissella cibaria* é da família das bactérias lácticas (BAL), que são microrganismos que convertem carboidratos, como açúcares, em ácido láctico por meio da fermentação. Esse ácido resultante é responsável pela redução do pH do meio onde ocorre a fermentação (STEPHENS. *et al.*, 2019).

Em relação à produção de EPS, houve uma variação entre 0,0 g/L (tratamento 7) a 0,5 g/L (tratamento 13). No entanto, para Korcz e Varga (2021) o rendimento de EPS deve ser de pelo menos 10-15 g/L para que seja economicamente vantajoso usar como aditivo alimentar.

Quanto ao crescimento microbiano variou entre 1,5 UFC/g (tratamento 13) a 5,6 UFC/g (tratamento 8). A diminuição do pH evidencia que houve um crescimento microbiano e

consequentemente a produção de EPS, que pode ser produzido pela *Weissella cibaria* durante o processo fermentativo (STEPHENS *et al.*, 2019).

A porcentagem de proteína em base úmida variou entre 1,0 % (tratamento 9) a 16,5% (tratamento 2).

Na Tabela 11, são apresentados os efeitos das variáveis independentes sobre perfil de textura das amostras cruas e após cocção.

Tabela 11. Efeitos variáveis independentes sobre perfil de textura das amostras cruas e após cocção

		Inter c	PIS (%m/m)	PE (%m/m)	FA (%m/m)	FFB (%m/m)	Ô3 (%m/ m)	S (%m/ m)	TT (min)	TU (min)
Dur.	Ef.	198,7	75,1	84,8	8,884	46,92	-13,5	-0,66	4,10	-69,29
(g)	Er.	9,231	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3	21,3
Cru	p	0,000	0,010	0,005	0,689	0,064	0,546	0,976	0,853	0,014
Dur.	Ef.	1325,3	309,0	380,6	-158,7	294,9	-93,7	645,2	234,1	-112,6
(g)	Er.	60,91	140,7	140,7	140,7	140,7	140,7	140,7	140,7	140,7
Coc	p	0,000	0,064	0,030	0,296	0,074	0,527	0,003	0,140	0,450
Elas.	Ef.	0,382	-0,029	-0,044	0,150	0,095	-0,02	0,021	0,025	0,046
(mm)	Er.	0,012	0,027	0,027	0,027	0,027	0,027	0,027	0,027	0,027
Cru	p	0,000	0,308	0,139	0,001	0,009	0,534	0,458	0,370	0,127
Elas.	Ef.	0,487	-0,095	-0,041	-0,110	-0,098	-0,07	0,064	-0,032	-0,100
(mm)	Er.	0,022	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Coc	p	0,000	0,096	0,432	0,063	0,089	0,215	0,242	0,546	0,085
Coe.	Ef.	0,328	-0,026	-0,022	0,083	0,056	-0,02	0,027	0,011	0,018
Cru	Er.	0,008	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
	p	0,000	0,198	0,262	0,003	0,017	0,448	0,183	0,568	0,350
Coe.	Ef.	0,355	-0,085	-0,066	-0,08	-0,077	-0,05	0,04	0,02	-0,03
Coc	Er.	0,018	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	p	0,000	0,078	0,157	0,096	0,105	0,304	0,427	0,723	0,503
Gom.	Ef.	64,65	19,24	23,27	20,04	23,28	-12,5	10,2	0,35	-21,62
Cru	Er.	2,127	4,91	4,91	4,91	4,91	4,91	4,91	4,91	4,91
	p	0,000	0,006	0,002	0,005	0,002	0,038	0,077	0,946	0,003
Gom.	Ef.	1,98	76,55	-143,1	-11,6	-65,1	311,4	153,3	-52,0	2,0
Coc	Er.	81,6	81,6	81,6	81,6	81,6	81,6	81,6	81,6	81,6
	p	0,981	0,379	0,123	0,891	0,451	0,007	0,102	0,544	0,981
Mas.	Ef.	25,58	4,680	7,045	18,344	14,616	-8,66	8,517	0,961	-7,920
(g)	Er.	1,095	2,529	2,529	2,529	2,529	2,529	2,529	2,529	2,529
Cru	p	0,000	0,107	0,027	0,000	0,001	0,011	0,012	0,715	0,017
Mas.	Ef.	242,9	-38,74	16,101	-134,4	-70,2	-68,6	199,7	94,0	-62,9
(g)	Er.	26,57	61,37	61,37	61,37	61,37	61,37	61,37	61,37	61,37
Coc	p	0,000	0,548	0,801	0,065	0,290	0,300	0,014	0,169	0,339
Res.	Ef.	0,048	0,001	-0,001	-0,010	-0,006	-0,004	-0,001	-0,003	-0,005
Cru	Er.	0,001	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
	p	0,000	0,797	0,744	0,006	0,064	0,155	0,807	0,331	0,129
Res.	Ef.	0,120	-0,047	-0,030	-0,037	-0,029	-0,023	0,011	0,002	-0,015
Coc	Er.	0,008	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
	p	0,000	0,036	0,142	0,083	0,152	0,242	0,571	0,905	0,441

PIS=Proteína de soja isolada (%m/m); PE=Proteína de ervilha (%m/m); FA=Farinha de Aveia (%m/m); FFB=Farinha de feijão branco (%m/m); Ô3=Ômega 3 (%m/m); S=Sacarose (%m/m); TT=Tempo do tratamento térmico (min); TU=Tempo ultrassom (min); Dur.=Dureza; Elas.=Elasticidade; Coes.=Coesividade; Gomos.=Gomosidade; Mast.=Mastigabilidade; Resil.=Resiliência; Ef.= Efeito; Er.= Erro puro; p=p-valor ; Trat.=Tratamento; Coc.=Após a cocção. Fonte: Autoral, 2023.

Na análise da variável dureza, as variáveis independentes proteína de soja isolada, proteína de ervilha e farinha de feijão branco apresentaram efeitos significativos positivos ($p < 0,1$) sobre o parâmetro analisado, o que significa que um aumento do nível das variáveis provoca um aumento na dureza do produto cru. Além destas variáveis, o tempo de ultrassom também apresentou efeito negativo significativo ($p < 0,1$), ou seja, a dureza foi maior quando o tratamento ultrassônico não foi aplicado. Para o produto após a cocção, as mesmas variáveis proteína de soja isolada, proteína de ervilha, farinha de feijão branco apresentaram efeitos positivos significativos ($p < 0,1$) sobre a dureza acrescida da variável sacarose, que também exerceu efeito positivo. No estudo do desenvolvimento de um análogo a nugget, realizado por Yuliarti, Kovis e Yi (2021), a incorporação de maiores teores de isolados de proteína de ervilha, chegando a 17% de base seca, resultou em um aumento significativo na dureza e mastigabilidade de análogos de carne. Os autores atribuíram esse notável aumento na resistência estrutural a uma rede mais extensa de ligações cruzadas de proteínas. Possivelmente o mesmo ocorreu com os análogos desse trabalho, em que aumentando-se o teor de PIS, PE e FFB, uma rede maior de ligações entre as proteínas foi formada, conferindo maior dureza.

Para o parâmetro elasticidade, para o produto cru, as variáveis que apresentaram efeitos significativos e positivos ($p < 0,1$) foram farinha de aveia e farinha de feijão branco. Já após a cocção, as mesmas duas variáveis; farinha de aveia e farinha de feijão branco exerceram efeitos significativos, mas agora negativos, junto com mais duas outras variáveis (proteína isolada de soja e tempo de ultrassom), que também apresentaram efeitos significativos negativos.

Para parâmetro coesividade, na amostra crua, as mesmas variáveis (farinha de aveia e farinha de feijão branco) que apresentaram efeitos significativos sobre elasticidade, também apresentaram efeitos significativos positivos. Na amostra após a cocção, tanto proteína isolada de soja, como farinha de aveia apresentaram efeitos negativos ($p < 0,1$). Verifica-se que o efeito de mesmas variáveis independentes pode ser diferente em parâmetros de textura, se a amostra for crua ou cozida. Foi observado por Kaleda *et al.* (2021), que o aumento no teor de proteína de aveia no análogo extrusado resultou no aumento da coesividade. Para os autores, esse fenômeno indica que a estrutura interna tridimensional dos análogos é sustentada por interações hidrofóbicas e estabilizada por pontes de hidrogênio e dissulfeto.

Já para a gomosidade, quando crua, a proteína isolada de soja, proteína de ervilha, farinha de aveia, farinha de feijão branco e sacarose apresentaram efeitos significativos positivos ($p < 0,1$) e ômega 3 e tempo de ultrassom efeitos significativos negativos ($p < 0,1$). Na

amostra após a cocção, das variáveis independentes que mostraram efeitos significativos sobre gomosidade na amostra crua, somente ômega 3 exerceu efeito significativo, mas agora positivo ($p < 0,1$) e a sacarose que ficou muito próxima da significância ($p = 0,102$).

Praticamente as mesmas variáveis que exerceram efeitos significativos sobre gomosidade da amostra crua – proteína de ervilha, farinha de aveia, farinha de feijão branco, ômega 3 e tempo de ultrassom – também apresentaram efeitos significativos na mastigabilidade da amostra crua. Já para a amostra após a cocção, somente a farinha de aveia e a sacarose apresentaram efeitos significativos positivos. Na resiliência, somente a farinha de aveia e farinha de feijão branco apresentaram efeitos significativos e positivos para amostra crua e a proteína isolada de soja e farinha de aveia apresentaram efeitos significativos negativos, na amostra após a cocção. Segundo Joshi *et al.* (2014), os amidos desempenharam um papel significativo ao proporcionar consideráveis níveis de resiliência e coesividade nas formulações dos análogos. Elevados valores de coesão e resiliência indicam que as ligações responsáveis por manter a matriz coesa são mais fortes. Isso se deve ao fato de que uma maior resiliência pode estar associada a uma menor capacidade de retenção de água e à formação de uma retícula mais sólida, resultando em uma rede resistente que não se deforma facilmente. Por outro lado, ocorre o oposto em concentrações elevadas de proteína, que apresentam valores reduzidos de coesividade e resiliência, isso implica em ligações internas mais frágeis, resultando em maior grau de deformação.

Para todos os parâmetros do perfil de textura analisados, tanto para a amostra crua, como para a amostra após a cocção, o tempo de tratamento térmico não apresentou efeitos significativos sobre estas variáveis. Isto significa que o aumento do tempo do tratamento térmico não alterou significativamente o perfil de textura e portanto, pode-se escolher um tempo entre 10 e 20 min. Também não é necessária a aplicação de tratamento ultrassônico, uma vez que apresentou efeitos significativos negativos, sobre dureza, elasticidade, gomosidade e mastigabilidade. No processo de ultrassom os princípios que podem afetar a estrutura do análogo são a cavitação e as forças de cisalhamento. Esse processo pode levar à redução do tamanho das partículas devido à interrupção de diferentes interações proteína-proteína, proteína-carboidrato. Além disso, pode aparecer um efeito de desnaturação, afetando estruturas terciárias e secundárias (O'SULLIVAN *et al.*, 2017).

Kim e colaboradores (2021) constataram que a formulação composta por proteínas de ervilha, lentilha e fava em hambúrgueres vegetais não influenciou significativamente sua dureza, entretanto, a coesividade e a gomosidade foram notavelmente afetadas. Por outro lado, no estudo de Bakhsh *et al.* (2021) os hambúrgueres à base de plantas elaborados com proteína

vegetal texturizada comercial e proteína isolada de soja demonstraram níveis significativamente inferiores de dureza, mastigabilidade, gomosidade, coesão em comparação com os hambúrgueres de carne controle.

Tabela 12. Efeitos variáveis independentes sobre cor das amostras cruas e após a cocção, pH no início e após a fermentação, crescimento, EPS e proteína

		Interc.	PIS (%m/ m)	PE (%m/ m)	FA (%m/ m)	FFB (%m/ m)	Ô3 (%m/ m)	S (%m/ m)	TT (min)	TU (min)
L* Cru	Ef.	64,5	-1,16	-2,94	-2,78	-1,89	-0,48	-2,22	0,43	-0,61
	Er.	0,45	1,047	1,047	1,047	1,047	1,047	1,047	1,047	1,047
	p	0,000	0,306	0,026	0,033	0,115	0,658	0,072	0,692	0,576
L* Coc	Ef.	53,992	2,055	-1,801	-2,659	-2,936	-2,195	-2,652	2,244	-2,287
	Er.	0,820	1,893	1,893	1,893	1,893	1,893	1,893	1,893	1,893
	p	0,000	0,314	0,373	0,203	0,165	0,284	0,204	0,275	0,266
a* Cru	Ef.	4,820	1,166	0,544	0,427	0,135	0,052	0,438	0,061	-0,166
	Er.	0,055	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127
	p	0,000	0,000	0,004	0,012	0,323	0,694	0,011	0,643	0,232
a* Coc	Ef.	6,107	0,371	-0,413	0,143	-0,260	0,225	0,407	-0,051	0,243
	Er.	0,229	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528	0,528
	p	0,000	0,505	0,461	0,795	0,638	0,683	0,466	0,925	0,660
b* Cru	Ef.	22,346	0,843	-1,550	-0,744	0,183	0,176	0,547	-1,025	-0,568
	Er.	0,337	0,777	0,777	0,777	0,777	0,777	0,777	0,777	0,777
	p	0,000	0,314	0,086	0,370	0,821	0,827	0,504	0,229	0,489
b* Coc	Ef.	22,180	1,370	-2,072	1,951	-0,711	0,311	-0,186	0,409	-0,465
	Er.	0,385	0,889	0,889	0,889	0,889	0,889	0,889	0,889	0,889
	p	0,000	0,167	0,053	0,064	0,450	0,737	0,840	0,659	0,617
Δp H	Ef.	1,55	-0,24	-0,029	-0,26	-0,07	-0,16	0,28	0,37	0,35
	Er.	0,08	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
	p	0,000	0,261	0,883	0,228	0,725	0,443	0,189	0,09	0,12
EPS (g/L)	Ef.	0,252	0,017	-0,100	-0,081	-0,080	-0,005	-0,078	-0,017	0,070
	Er.	0,040	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092	0,092
	p	0,000	0,860	0,311	0,405	0,413	0,960	0,421	0,856	0,471
Log (UFC /g)	Ef.	3,188	-0,470	0,177	0,787	0,900	0,667	-0,397	-0,187	0,987
	Er.	0,296	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684	0,684
	p	0,000	0,514	0,804	0,288	0,230	0,362	0,580	0,793	0,192
Pro t (%)	Ef.	5,956	5,63	5,18	0,29	2,25	-0,70	-6,40	-1,93	-1,88
	Er.	1,012	2,34	2,34	2,3437	2,347	2,34	2,34	2,34	2,34
	p	0,001	0,047	0,062	0,905	0,368	0,772	0,029	0,436	0,447

PIS= Proteína de soja isolada (%m/m); PE= Proteína de ervilha (%m/m); FA= Farinha de Aveia (%m/m); FFB= Farinha de feijão branco (%m/m); Ô3= Ômega 3 (%m/m); S= Sacarose (%m/m); TT= Tempo do tratamento térmico (min); TU= Tempo ultrassom (min); pH_i= pH antes da fermentação, pH_f= pH depois da fermentação, EPS= EPS produzido (g/L); Log= Crescimento Log UFC/g; Proteína= Proteína em base úmida (%); Ef. = Efeito; Er. = Erro puro; p = p-valor ;Trat.= Tratamento; Coc. = Após a cocção. Fonte: Autoral, 2023.

Em relação aos parâmetros de cor, para a luminosidade, as variáveis que apresentaram efeito significativo ($p < 0,1$) sobre o produto cru foram proteína de ervilha, farinha de aveia e sacarose. Todas as variáveis significativas apresentaram efeito negativo sobre luminosidade o que significa que um aumento dos teores desses ingredientes diminui a luminosidade, deixando o análogo mais escuro. Após a cocção nenhuma das variáveis independentes apresentou efeito estatisticamente significativo ($p < 0,1$) sobre luminosidade.

No que diz respeito ao parâmetro a^* assim como luminosidade, na amostra após a cocção nenhuma variável apresentou efeito significativo ($p < 0,1$), lembrando que os valores de a^* dos análogos foram inferiores ao do filé de tilápia frito. Já para amostra crua, as variáveis proteína isolada de soja, proteína de ervilha, farinha de aveia e sacarose, apresentaram efeito positivo sobre a^* .

Em relação ao parâmetro b^* da amostra crua, apenas proteína de ervilha apresentou efeito significativo e negativo. Para a amostra após a cocção, a proteína de ervilha também apresentou efeito significativo negativo, além desta variável, a farinha de aveia apresentou efeito significativo positivo sobre b^* .

Para a variação de pH ao longo da fermentação, apenas o tempo do tratamento térmico apresentou efeito significativo e positivo ($p < 0,1$). Possivelmente, um maior tempo provoque uma maior liberação de exsudados do meio, diminuindo o pH do meio e disponibilizando mais nutrientes para os microrganismos, auxiliando a fermentação e produção de ácidos orgânicos.

Na produção de EPS e crescimento microbiano, nenhuma variável independente apresentou efeito significativo ($p < 0,1$). Os polissacarídeos derivados de diferentes BAL, especialmente os EPS, apresentam grande variação em composição, carga, disposição espacial, rigidez e capacidade de interagir com proteínas (DUBOC; MOLLET, 2001). Além disso, existem vários fatores que afetam o rendimento do EPS, incluindo a própria cepa bacteriana, bem como outras condições de cultura, como composição do meio, período de incubação, pH inicial, temperatura de incubação, aeração, entre outros (DABA; ELNAHAS; ELKHATEEB, 2021).

Com respeito ao teor de proteína, como era esperado, as variáveis que apresentaram efeitos significativos ($p < 0,1$) positivos foram proteína isolada de soja e proteína de ervilha e a sacarose apresentou efeito significativo negativo ($p < 0,1$).

Na Tabela 13 são apresentados os resultados da análise sensorial para os análogos cozidos em termos da razão da soma do número de defeitos apresentados por cada um dos provadores, para cada um dos parâmetros, pelo número de provadores, portanto, menores valores representam menores números de defeitos apresentados.

Tabela 13. Respostas do PB12 para os parâmetros defeitos na aparência, aroma, textura, sabor e fração total de defeitos da análise sensorial dos análogos cozidos

Tratamento	Fração de defeitos				Fração total de defeitos
	Aparência	Aroma	Textura	Sabor	
1	1,00	1,00	1,43	2,14	5,6
2	1,14	1,14	1,57	2,57	6,4
3	0,67	0,33	1,5	2	4,5
4	0,33	1,00	1,17	1,83	4,3
5	0,71	0,29	1,57	0,71	3,3
6	0,50	0,67	1,33	1,5	4
7	0,67	0,83	1,5	1,5	4,5
8	1,00	1,14	2,29	2,14	6,6
9	1,29	0,86	1,86	2,43	6,4
10	0,50	1,17	1,5	1,33	4,5
11	1,00	1,00	1,5	1,5	5,0
12	0,67	0,83	0,83	0,67	3,0
13	0,57	1,140	1,71	1,57	5,0
14	0,58	1,141	1,7	1,58	6,0
15	0,56	1,140	1,71	1,56	5,0
16	0,57	1,139	1,72	1,57	4,0

Fonte: Autoral, 2023.

O tipo de análise sensorial utilizada neste estudo foi a análise sensorial descritiva (ASD), nesse estudo, qualitativa. Para que fosse possível a quantificação dos resultados, e consequentemente a análise estatística dos dados, para cada atributo citado foi computado o número de defeitos apresentados pelo provador para cada um dos parâmetros analisados.

Textura e firmeza agradáveis, aparência e textura semelhantes ao peixe frito, cor da crosta e cheiro agradável com leve lembrança de peixe, umidade agradável foram os atributos positivos levantados. Os destaques de sem coesividade, excesso de óleo, aroma diferente do peixe, leve amargo, sabor doce, residual amargo, levemente ácido, residual oleoso, textura mole e sabor extremamente forte foram os destaques negativos considerados na pontuação dos defeitos.

A ASD é uma metodologia que possui inúmeras aplicações, como por exemplo, o acompanhamento de produtos concorrentes, desenvolvimento de novos produtos, controle da qualidade de alimentos, determinações químicas versus respostas sensoriais, além de ser possível realizar relação entre testes sensoriais e instrumentais (BEHRENS; SILVA, 2000).

Para a aparência os valores variaram entre 0,50 (tratamento 6 e 10) e 1,29 (tratamento 9), para aroma entre 0,33 (tratamento 3) e 1,14 (tratamento 14), para textura entre 0,83 (tratamento 12) e 2,29 (tratamento 8) e para sabor entre 0,71 (tratamento 5) e 2,57 (tratamento 2)

A fração total de defeitos se dá pela soma de todos os defeitos sensoriais (aparência, aroma, textura e sabor) apresentados anteriormente. Os valores variaram de 3,0 (tratamento 12) a 6,57 (tratamento 8). Portanto os tratamentos que apresentaram, de maneira global, um maior e menor número de defeitos, foram os tratamentos 8 e 12, respectivamente.

Tabela 14. Efeitos variáveis independentes sobre aparência, aroma, textura, sabor e fração total de defeitos da análise sensorial

		Interc.	PIS (% m/ m)	PE (% m/ m)	FA (% m/ m)	FFB (% m/ m)	Ô3 (% m/ m)	S (% m/ m)	TT (min)	TU (min)
Ap.	Ef.	0,735	-0,187	-0,017	-0,190	0,133	-0,023	-0,150	0,047	0,397
	Er.	0,049	0,112	0,112	0,112	0,112	0,112	0,112	0,112	0,112
	p	0,000	0,140	0,886	0,135	0,274	0,841	0,223	0,690	0,010
Ar.	Ef.	0,926	0,047	-0,290	-0,053	0,043	-0,223	0,133	0,100	0,227
	Er.	0,069	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160
	p	0,000	0,779	0,113	0,749	0,795	0,206	0,433	0,552	0,200
Tex.	Ef.	1,520	-0,247	-0,113	0,160	0,217	0,437	0,040	0,350	0,223
	Er.	0,046	0,106	0,106	0,106	0,106	0,106	0,106	0,106	0,106
	p	0,000	0,054	0,322	0,176	0,081	0,005	0,718	0,013	0,074
Sab.	Ef.	1,663	-0,027	-0,127	0,317	0,340	-0,017	-0,023	-0,280	0,707
	Er.	0,123	0,284	0,284	0,284	0,284	0,284	0,284	0,284	0,284
	p	0,000	0,928	0,669	0,302	0,270	0,955	0,937	0,357	0,042
FTD	Ef.	4,883	-0,313	-0,447	0,137	0,830	0,077	-0,100	0,123	1,647
	Er.	0,242	0,558	0,558	0,558	0,558	0,558	0,558	0,558	0,558
	p	0,000	0,592	0,450	0,814	0,180	0,895	0,863	0,831	0,021

PIS= Proteína de soja isolada (%m/m); PE= Proteína de ervilha (%m/m); FA= Farinha de Aveia (%m/m); FFB= Farinha de feijão branco (%m/m); Ô3= Ômega 3 (%m/m); S= Sacarose (%m/m); TT= Tempo do tratamento térmico (min); TU= Tempo ultrassom (min); Ap.= Aparência; Ar.= Aroma; Tex.=Textura; Sab.= Sabor, FTD =fração total de defeitos; Ef. = Efeito; Er. = Erro puro; p = p-valor; Trat.= Tratamento. Fonte: Autoral, 2023.

Em relação aos efeitos das variáveis independentes sobre os parâmetros analisados na análise sensorial, para a aparência apenas o tempo de ultrassom apresentou efeito significativo e positivo ($p>0,1$), enquanto PIS e FA apresentaram efeitos significativos e negativos ($p>0,15$). Para o aroma, apenas a proteína de ervilha (PE) apresentou efeito significativo e negativo ($p<0,15$).

Já para textura, as variáveis proteína isolada de soja, farinha de feijão branco, óleo de microalgas, tempo de tratamento térmico e tempo de ultrassom apresentaram efeitos

significativos ($p>0,1$), sendo que PIS exerceu efeito negativo e aos demais efeitos positivos, ou seja, um aumento da proteína isolada de soja na formulação provoca um menor número de defeitos na textura. Dentro da análise dos parâmetros do perfil de textura para a dureza, a proteína isolada de soja apresentou efeito significativo positivo, em que um aumento da porcentagem desta provocou um aumento da dureza.

Para o sabor e fração total de defeitos, apenas o tempo de ultrassom apresentou efeito significativo ($p>0,1$) positivo.

Portanto, assim como na análise dos efeitos nos parâmetros de textura, a aplicação de um processamento ultrassônico em relação aos parâmetros sensoriais não é recomendada, uma vez que este possui efeito significativo positivo, ou seja, quando utilizado um maior tempo de ultrassom a amostra analisada apresenta uma maior quantidade de defeitos para aparência, textura e sabor. Este comportamento pode estar relacionado com o efeito que processo ultrassônico causa, ou seja, pode levar à redução do tamanho das partículas, deixando o análogo muito homogêneo, com textura e aparência mais diferentes de um filé de peixe.

Czarnowska-Kujawska *et al.* (2023) ao avaliar o efeito do tempo de processamento *Sous-Vide* nas características sensoriais de brócolis, feijão verde e beterraba, o aumento do tempo de processamento aumentou a intensidade do aroma dos vegetais. Mas os autores consideram que tal alteração pode nem sempre ser desejada pelos consumidores, como no caso dos brócolis. O comportamento apresentado é semelhante ao obtido no presente trabalho em que, embora o tratamento de ultrassom possa modificar as características do análogo, nem sempre estas características são esperadas pelo consumidor.

4. CONCLUSÕES

Foi otimizada a etapa de branqueamento do píleo e das estipes trituradas de *P. ostreatus*, sendo 80°C por 10 min a melhor condição do tratamento térmico.

As estipes dos cogumelos de *P.ostreatus* se mostram mais adequadas para elaboração de análogos a filé de peixe, devido à maior capacidade de adesão e menor perda de exsudados.

Entre as bactérias lácticas *L. pseudomesenteroides* e *W. cibaria*, foi escolhida *W. cibaria* para fermentação semi-sólida do meio à base de cogumelo, por produzir boa quantidade de EPS e sem necessitar ajuste de pH.

No PB 12, notou-se que não se faz necessária a utilização de uma etapa de mistura dos ingredientes com as estipes de cogumelo no banho ultrassônico para a elaboração do análogo, visto que este interfere de forma negativa nos parâmetros de textura e provoca um maior número de defeitos na análise sensorial. Em relação aos insumos, notou-se que um aumento no teor de proteína isolada de soja aumenta a dureza do análogo e diminui os defeitos na textura. A fermentação semi-sólida do meio à base de cogumelos com *W. cibaria* interfere negativamente na aceitação sensorial dos análogos, pelo grande número de defeitos na aparência, aroma, textura e sabor dos análogos.

Em conclusão, a *W. cibaria* foi capaz de fermentar o meio à base de cogumelo e insumos e também de produzir EPS, afirmações confirmadas pelo crescimento celular, queda de pH e quantidade de EPS produzido ao longo da fermentação, resultando em um potencial processo para elaboração de análogo de peixe.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 2005.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis**; Method. ColiComplete (AOAC Official Method 992.30—modified)
- BAKHS, A. *et al.* A novel approach for tuning the physicochemical, textural, and sensory characteristics of plant-based meat analogs with different levels of methylcellulose concentration. **Foods**, v. 10, n. 3, p. 560, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/foods10030560>>. Acesso em: 05 jan. 2024.
- BEHRENS, J. H.; SILVA, M. A. A. P. da. Perfil sensorial de vinhos brancos varietais brasileiros através de análise descritiva quantitativa. **Food Science and Technology**, 2000, v. 20, n. 1, p. 60–67. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/H8qckbgt6fxZQhnYcmXhQkn/#>>. Acesso em: 05 set. 2023.
- BERNARDO, Y. A. A. *et al.* Texture profile analysis: how parameter settings affect the instrumental texture characteristics of fish fillets stored under refrigeration. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 1, p. 144–156, 2022. Disponível em: <<https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s12161-021-02095-0>>. Acesso em: 19 set. 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Instrução Normativa IN nº 161**, de 1º de julho de 2022.
- CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. L. **Metodologia para determinação de peroxidase e da polifenoloxidase em plantas**. Comunicado Técnico EMBRAPA, 87, Pelotas, RS, p. 1-3, 2003. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31616/1/comunicado87.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2023.
- CHENG, X.-F.; ZHANG, M.; ADHIKARI, B. The inactivation kinetics of polyphenol oxidase in mushroom (*Agaricus bisporus*) during thermal and thermosonic treatments. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 2, p. 674-679, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.09.012>>. Acesso em: 09 nov. 2023.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós Colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. UFLA, editor. Lavras; 2005. 783 p.

COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉCLAIRAGE – CIE. **Colorimetry**. 2.ed. Vienna: CIE Publication, 1986. 74p.

COSTA, I. M. *et al.* Produtos *plant-based*: potencial, tecnologia de produção e desafios. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, 2022, v. 8, n. 7, p. 14788- 14791. Disponível em: <<https://periodicos.ufv.br/jcec/article/view/14788>>. Acesso em: 8 dez. 2023.

CZARNOWSKA-KUJAWSKA, M. *et al.* The effect of sous-vide processing time on chemical and sensory properties of broccoli, Green Beans and beetroots. **Applied Sciences**, 2023, v. 13, n. 7, p. 4086. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/app13074086>>. Acesso em: 04 dez. 2023.

DABA, G. M.; ELNAHAS, M. O.; ELKHATEEB, W. A. Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 173, p. 79-89, 2021. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0141813021001410>>. Acesso em: 07 dez. 2023.

DOROŠKI, A. *et al.* How do sous-vide treatment and herb spices addition improve sensory acceptance and antimicrobial attributes of organic oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 46, n. 11, 13 p., 2022. Disponível em: 5 <<https://ifst-onlinelibrary-wiley.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1111/jfpp.17142>>. Acesso em: 27 nov. 2022.

DUBOC, P.; MOLLET, B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, 2001, v. 11, n. 9, p. 759-768. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0958694601001194?via%3Dihub>>. Acesso em: 02 jan. 2024.

JOSHI, M. *et al.* Rheological and microstructural characteristics of lentil starch-lentil protein composite pastes and gels. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 226–237, 2014. Disponível em: <<https://www->

sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0268005X13001756?via%3Dihub>. Acesso em: 12 dez. 2023.

KALEDA, A. *et al.* Physicochemical, textural, and sensorial properties of fibrous meat analogs from oat-pea protein blends extruded at different moistures, temperatures, and screw speeds. **Future Foods: a Dedicated Journal for Sustainability in Food Science**, v. 4, p. 100092, 2021. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2666833521000824?via%3Dihub>>. Acesso em: 9 dez. 2023.

KIM, T. *et al.* Beef flavor vegetable hamburger patties with high moisture meat analogs (HMMA) with pulse proteins-peas, lentils, and faba beans. **Food Science & Nutrition**, v. 9, n. 8, p. 4048-4056, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/fsn3.2172>>. Acesso em: 07 dez. 2023.

KORCZ, E.; VARGA, L. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, 2021, v. 110, p. 375-384. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0924224421001151?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 jan. 2024.

LAMONGI, D. C. *et al.* Análise microbiológica e físico-química de *Pleurotus ostreatus* comercializados na zona centro-sul da cidade de Manaus-AM. **Scientia Amazonia**, 2019, v. 8, n. 3. Disponível em: <<https://scientia-amazonia.org/wp-content/uploads/2019/08/v.-8-n.-3-CB16-CB22-2019.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2023.

LEI, J. *et al.* Effects of UV-C treatment on browning and the expression of polyphenol oxidase (PPO) genes in different tissues of *Agaricus bisporus* during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 139, p. 99-105, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.022>>. Acesso em: 02 out. 2023.

LEÓN, K. *et al.* Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. **Food research international**, v. 39, p. 1084–1091, 2006. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0963996906000470?via%3Dihub>>. Acesso em: 19 set. 2023.

LIMA, C. H. G. de S. *et al.* Propriedades tecnológicas de bactérias ácido-láticas em laticínios: revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 2021, v. 76, n. 4, pp. 243–256. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/861/571>>.

Acesso em: 21 ago. 2023.

LIMA, L. P. de *et al.* Alimentos veganos: um estudo com consumidores da região de Canoinhas-SC. **Revista brasileira de tecnologia agroindustrial**, 2022, v. 16, n. 1, p. 3837-3855. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/14676/9016>>. Acesso em: 8 dez. 2023.

MAZUMDER, M. A. R. *et al.* Mushroom-Legume-Based Minced Meat: Physico-Chemical and Sensory Properties. **Foods**, v. 12, n.11, p. 2094, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/foods12112094>>. Acesso em: 07 dez. 2023.

MCCLEMENTS, D. J.; GROSSMANN, L. The science of plant-based foods: Constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 2021, v. 20, n. 4, p. 4049–4100. Disponível em: <<https://ift-onlinelibrary-wiley.ez26.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1111/1541-4337.12771>>. Acesso em: 22 set. 2023.

MONDRAGON-BERNAL, O. L. *et al.* *Lactobacillus rhamnosus* exopolysaccharides (EPS) production and growth in soybeans water extract synbiotic beverage. In: 13th European Congress on Biotechnology - Symbiosis -Science, Industry and Society, 2007, Barcelona. **Journal of Biotechnology**. Amsterdam: ELSEVIER. v. 131. p. S180-S181.

MONDRAGÓN-BERNAL, O. L. *et al.* *Lactobacillus rhamnosus* exopolysaccharides (EPS) production and growth in soybeans water extract synbiotic beverage. **Journal of Biotechnology - J BIOTECHNOL**, 2007, v. 2, n. 131, p. S180-S181. Disponível em: <<https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-9c4b953a-9978-370f-8273-4a138993e945>>. Acesso em: 18 jan. 2023.

MONDRAGÓN-BERNAL, O. L. *et al.* Stability and functionality of synbiotic soy food during shelf-life. **Journal of Functional Foods**, 2017, v. 35, p. 134-145. Disponível em: <<https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-9c4b953a-9978-370f-8273-4a138993e945>>. Acesso em: 18 jan. 2023.

MONDRAGÓN-BERNAL, O. L. *et al.* Synbiotic Soy Beverages: Principles and Sensory Attributes. In: Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology. **CRC Press**, 2012. p. 124-151. Disponível em: <<https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/b12055-10/synbiotic-soy-beverages-principles-sensory-attributes-olga-luc%C3%ADa-mondrag%C3%B3n-bernal-francisco-maugeri-filho-jos%C3%A9-guilherme-lembi-ferreira-alves-maria-isabel-rodrigues>>. Acesso em: 06 dez. 2022.

MONDRAGÓN-BERNAL, O. L.; *et al.* Formulação e avaliação sensorial de um produto simbiótico. In: Susana Marta Isay Saad; 5 Adriano Gomes de Assis; José Assis Fonseca Faria. (Org.). Probióticos e Prebióticos em Alimentos. **Fundamentos e Aplicações Tecnológicas**. 1ed. São paulo: Editora Varela, 2011, v. 1, p. 649-669.

MONDRAGÓN-BERNAL, O. L.; FILHO, F. M. Bactérias lácticas: funcionalidad, polisacáridos, potencial terapéutico y aplicaciones en alimentos. **Publicaciones e Investigación**, 2008, v. 2, p. 69-96. Disponível em: <<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/publicaciones-e-investigacion/article/view/561>>. Acesso em: 06 dez. 2022.

MONTEIRO, R. G. *et al.* The effect of exopolysaccharides obtained from lactic acid bacteria as a prebiotic: a systematic review. **Research, Society and Development**, 2021, v. 10, n. 15, p. e194101522547. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22547>. Acesso em: 20 jul. 2022.

MOON, K. M. *et al.* Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2754, 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/12/2754>>. Acesso em: 04 dez. 2024.

NERYA, O. *et al.* Prevention of *Agaricus bisporus* postharvest browning with tyrosinase inhibitors. **Postharvest Biology and Technology**, 2006, v. 39, n. 3, p. 272-277. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0925521405002231?via%3Dihub>>. Acesso em: 04 out. 2023.

O'SULLIVAN, J. J. *et al.* Applications of ultrasound for the functional modification of proteins and nanoemulsion formation: A review. **Food Hydrocoll.** 2017, 71, 299–310.

Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0268005X16311122?via%3Dihub>>. Acesso em: 23 dez. 2023.

ORLANDELLI, R. C. *et al.* Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 3, 2012. Disponível em: <<http://68.183.29.147/revista/index.php/sabios/article/view/1346>>. Acesso em: 22 mai. 2023.

ORSINE, J. V. C.; BRITO, L. M.; NOVAES, M. R. C. G. Cogumelos comestíveis: uso, conservação, características nutricionais e farmacológicas. **Clinical and Biomedical Research**, 2013, v. 32, n. 4. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/29231/23884>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

PALHARES, M. de P. P. **Produtos vegetais análogos de cárneos e pescado comercializados no brasil: caracterização a partir de informações da rotulagem**. 2023. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2023. Disponível em: <<https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/57302/1/PRODUTOS%20VEGETAIS%20AN%C3%81LOGOS%20DE%20C%C3%81RNEOS%20E%20PESCADO%20COMERCIALIZADOS%20NO%20BRASIL%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20a%20partir%20de%20informa%C3%A7%C3%B5es%20da%20rotulagem.pdf>>. Acesso em: 8 dez. 2023.

PAULO, E. M. *et al.* An Alternative Method for Screening Lactic Acid Bacteria for the Production of Exopolysaccharides with Rapid Confirmation. **Ciência E Tecnologia De Alimentos**. 2012. v. 32, n. 4, p. 710-14. Disponível em: <http://old.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612012000400011&lng=en&>. Acesso em: 20 jul 2022.

RAMACHANDRAIAH, K. Potential Development of Sustainable 3D-Printed Meat Analogues: A Review. **Sustainability (Basel, Switzerland)**, 2021, v. 13, n. 2, p. 938. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2071-1050/13/2/938>>. Acesso em: 05 fev. 2023.

RÉVILLION, J. P. *et al.* O mercado de alimentos vegetarianos e veganos: características e perspectivas. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 37, n. 1, p. 1-4, 3 mar. 2020. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/cct/article/view/26603/14566>. Acesso em: 8 dez. 2023.

REYES, J. E. *et al.* Prevalence of *Ewingella Americana* in Retail Fresh Cultivated Mushrooms (*Agaricus Bisporus*, *Lentinula Edodes* and *Pleurotus Ostreatus*) in Zaragoza (Spain). **FEMS Microbiology Ecology**, 2004, v. 47, n. 3, p. 291-296. Disponível em: <<https://academic-oup-com.ez26.periodicos.capes.gov.br/femsec/article/47/3/291/508993>>. Acesso em: 30 set. 2023.

SAMPAIO, G. R.; LOBÃO, V. L.; ROCCO, S. C. Uso de fosfatos como aditivos alimentares na redução de exsudato e nos atributos sensoriais da carne do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii**. **Boletim do Instituto de Pesca: Instituto de Pesca**, 2001, v. 27, n.1, p. 97 – 107. Disponível em: <<https://institutodepesca.org/index.php/bip/article/view/695>>. Acesso em: 09 ago. 2022.

SILVA, D. S. H. da *et al.* Secagem de cogumelos comestíveis como prática sustentável. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 9, p. 830., 2020 Disponível em: <https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao_ambiental/article/view/8734/4885>. Acesso em: 28 jul. 2023.

SILVA, R. N. et al. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.23, n.3, 2003. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/fsfZj35NNBsVXkTfHJWtRQG/#>>. Acesso em: 11 fev. 2022.

SOUZA, R. L. A. de *et al.* Caracterização da poligalacturonase produzida por fermentação semi-sólida utilizando-se resíduo do maracujá como substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2010, v. 14, n. 9, p. 987–992. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/tMfHtqp8rshqwtVtQJtTJKc/?lang=pt#>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

STATISTICA ANALYSIS. Data Analysis Software System 10.0. Stat-Soft, Tulsa, 2010.

STEPHENS, K. *et al.* Bacterial co-culture with cell signaling translator and growth controller modules for autonomously regulated culture composition. **Nat Commun**, 2019, v. 10, p. 4129. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41467-019-12027-6>>. Acesso em: 14 mai. 2022.

VULLIOUD, M. B.; RUSALEN, R.; DE MICHELIS, A. Blanching process of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) and its effect on parameters of technological interest in Argentina. **Micologia Aplicada International**, v. 23, n. 2, p. 47-53, 2011.

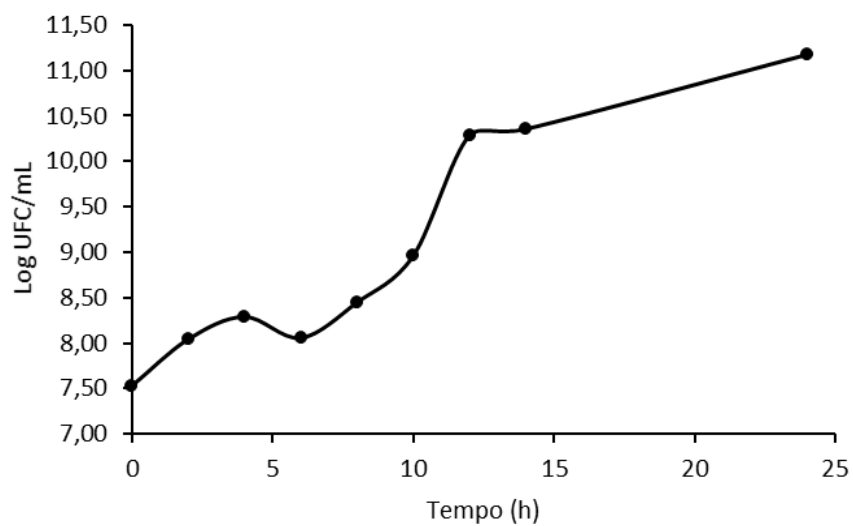
YUHARA, T. T. *et al.* Produção de queijo tipo quark funcional contendo exopolissacarídeos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 6, p. 387-394, 2014. Disponível em: <<https://revistadoilct.com.br/rilct/article/view/340>>. Acesso em: 30 out. 2023.

YULIARTI, O.; KOVIS, T. J. K.; YI, N.J. Structuring the meat analogue by using plant-based derived composites. **Journal of Food Engineering**, v. 288, p. 110138, 2021. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0260877420302363?via%3Dih10ub>>. Acesso em: 7 dez. 2023.

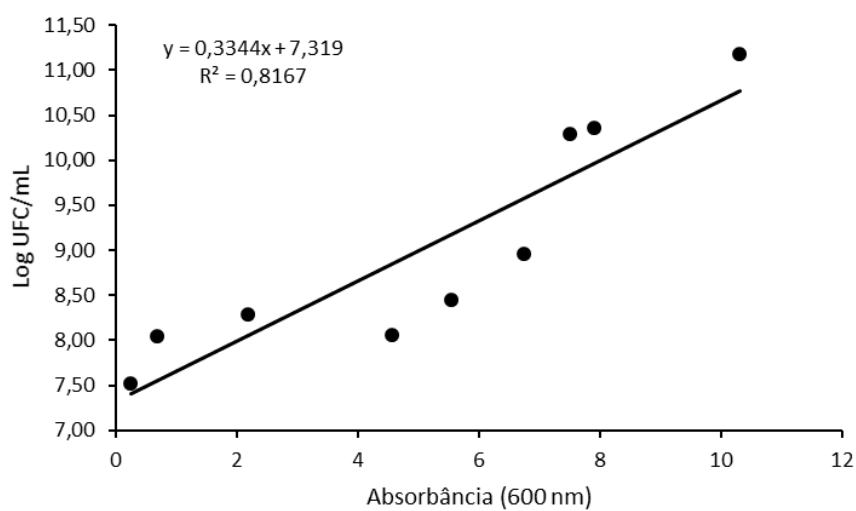
ZHANG, J. *et al.* Association between edible mushrooms consumption and handgrip strength: A large-scale population based on the TCLSIH cohort study. **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, 2022, v. 41, n. 6, p.1197–1207. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez26.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0261561422001182>>. Acesso em: 15 mar. 2022.

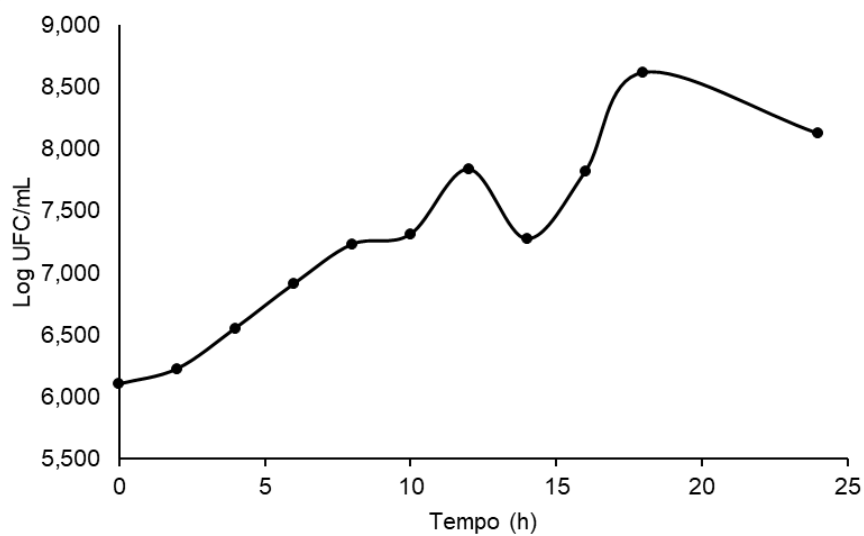
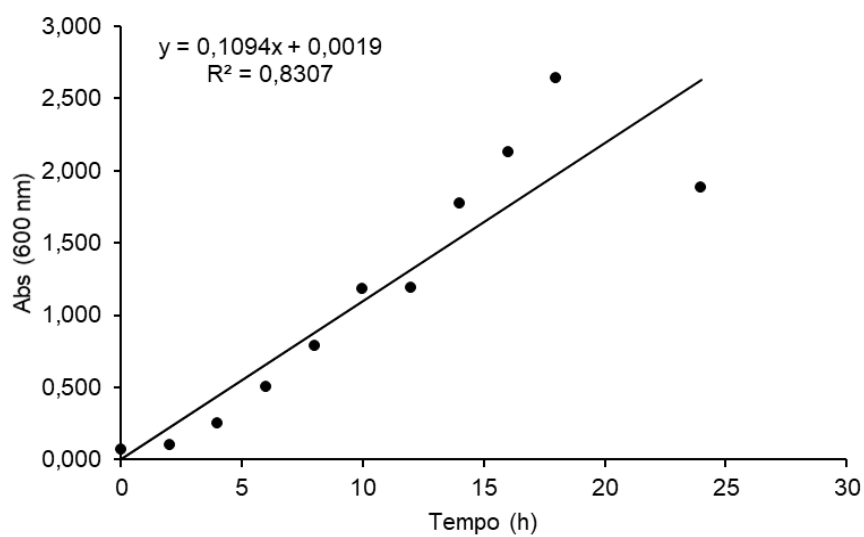
APÊNDICE A

Curva de crescimento do microrganismo *Leuconostoc pseudomesenteroides*.



Correlação entre a absorbância e a contagem de células viáveis do *L. pseudomesenteroides*.



Curva de crescimento do microrganismo *Weissella cibaria*.Correlação entre a absorbância e a contagem de células viáveis da *W. cibaria*.

APÊNDICE B

Parecer consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
LAVRAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO SENSORIAL DE PRODUTOS ANÁLOGOS A PEIXE À BASE DE PROTEÍNA FÚNGICA

Pesquisador: OLGA LUCIA MONDRAGÓN BERNAL

Área Temática: Pesquisas com coordenação e/ou patrocínio originados fora do Brasil, excetuadas aquelas com copatrocínio do Governo Brasileiro;

Versão: 1

CAAE: 60509622.7.0000.5148

Instituição Proponente: Universidade Federal de Lavras

Patrocinador Principal: ASSOCIACAO THE GOOD FOOD INSTITUTE DO BRASIL

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.552.956

Apresentação do Projeto:

Resumo: Nas últimas décadas houve uma demanda crescente na busca por fontes alternativas de proteína de origem não-animal por motivos ambientais, de saúde e pessoais. Entretanto, ainda há relativamente poucos produtos processados à base de cogumelos e produtos inovadores podem ser desenvolvidos para o público consumidor flexitariano. Assim, o objetivo desse trabalho é desenvolver fatias semelhantes a carne de peixes a partir de proteínas fúngicas para se assemelhar quanto à aparência, sabor e textura da carne do peixe. Serão aplicados diferentes tipos de testes (descritivos, discriminativos e afetivos) nos produtos desenvolvidos. As análises serão realizadas com avaliadores treinados e não treinados, consumidores de peixe e flexitarianos. Ao final desse projeto, espera-se contribuir com o desenvolvimento e reformulação de produtos análogos a filê de peixe.

Hipótese: Espera-se alcançar a aceitação sensorial em protótipos de análogos de peixe desenvolvidos a base de proteína fúngica.

Metodologia Proposta: Serão realizados diferentes testes de análises sensorial em produtos análogos a peixe em duas fases: Fase 1 - tratamento enzimático, Fase 2- Fermentação semi-sólida com Bactérias GRAS. Em cada fase serão realizados delineamentos sequenciais Plackett & Burman e Delineamento Composto Central Rotacional-DCCR, para otimização das variáveis de formulação e processo. As análises serão realizadas com avaliadores treinados e não treinados.

Endereço: Campus Universitário Cx Postal 3037

Bairro: PRP/COEP

CEP: 37.200-900

UF: MG

Município: LAVRAS

Telefone: (35)3829-5182

E-mail: coep.nintec@ufla.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS



Continuação do Parecer: 5.552.956

consumidores de peixe e flexitarianos. O planejamento e escolha dos testes a serem aplicados irá depender da amostra e do objetivo pretendido. Todos os testes sensoriais serão realizados no Laboratório de Análise Sensorial da UFLA. Todas as amostras para degustação serão elaboradas na Planta Piloto de Produtos Vegetais do DCA seguindo as exigências em BPF e manipulação de alimentos da RDC275/2004 e RDC216/2004 da ANVISA, além dos protocolos de Biossegurança da UFLA e da ANVISA contra Covid 19. As amostras a serem servidas serão somente aquelas que após análise microbiológica demonstrem ter a qualidade sanitária requerida pela IN 60/2019 para fungos comestíveis e derivados preparados (inteiros ou fracionados), branqueados, refrigerados ou congelados, que necessitam ou não de tratamento térmico efetivo, previamente ao consumo quanto a: E. coli e ausência de Salmonella sp. As análises sensoriais serão iniciadas após a aprovação pela COEP/UFLA. As matérias primas a utilizar nas formulações das amostras incluem: 2 espécies de cogumelos comestíveis orgânicos (de produtor regional com registro no MAPA). Os aditivos alimentares utilizados serão os permitidos pela legislação brasileira e nas quantidades recomendadas como seguras: saborizantes, espessantes naturais comerciais de origem vegetal ou microbiano, óleos e gorduras vegetais, enzimas transferases e proteases comerciais, bactérias lácticas (GRAS) de origem comercial ou provenientes de coleção de culturas da UFLA e ingredientes base como sal, açúcar, condimentos naturais de origem vegetal, farinhas ou amidos vegetais adquiridos em comércio local, ácido cítrico, bicarbonato, entre outros. Todas as matérias primas serão de procedência conhecida e rastreáveis. Os cogumelos serão submetidos a branqueamento para inativação de enzimas deteriorantes e redução da carga microbiana. Os sujeitos da pesquisa serão pessoas acima de 18 anos, não poderão ter sintomas gripais, e ter tempo disponível para comparecer nas sessões programadas pelos pesquisadores. Os participantes deverão concordar com o TCLE. Participantes com alergia a qualquer componente presente nas amostras avaliadas ou que não disponham de tempo para participar das sessões, não serão incluídos na pesquisa. Serão recrutados participantes voluntários por meio de redes sociais, e-mail e/ou publicação de anúncios (divulgados nas dependências da UFLA). Um número superior a 125 pessoas participará da pesquisa. Os participantes incluídos na pesquisa serão instruídos e treinados quando requerido de acordo com a ISO858/2016, nos métodos descritivos e/ou discriminativos e serão ensinados sobre a forma correta para preencher as fichas e uso das escalas não estruturadas. A seleção final, será com base em testes de acuidade sensorial e capacidade de discriminação. As amostras codificadas serão oferecidas após fritura ou grelhado sob condições controladas de tempo e temperatura até a cocção total das amostras no centro geométrico. Serão ofertados 25-30 gramas por amostra, em temperaturas uniformes e normais de consumo de máximo 75°C em pratos de

Endereço: Campus Universitário Cx Postal 3037

Bairro: PRP/COEP

CEP: 37.200-900

UF: MG

Município: LAVRAS

Telefone: (35)3829-5182

E-mail: coep.nintec@ufla.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS



Continuação do Parecer: 5.552.956

porcelana higienizados e talheres metálicos ou descartáveis próprios para alimentos quentes e será oferecido guardanapo, copo d'água e bolacha de sal para serem consumidos entre as amostras, as cabines terão álcool 70 líquido, ficha, lápis e borracha higienizados. Os dados levantados serão analisados estatisticamente com ajuda do software STATISTCA 10.0. Mais detalhes encontram -se no projeto anexo, assim como as fichas a aplicar nos testes sensoriais.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Aplicar metodologias de análise sensorial em diferentes formulações de produtos análogos a peixe à base de proteínas fúngicas, para o desenvolvimento de protótipos com aceitação pelo público alvo.

Objetivo Secundário: Agregar valor à proteína de cogumelo, reduzindo as perdas pós-colheita e dando alternativas de aumento de renda para os produtores de Lavras e região além de incentivar o consumo de proteínas alternativas às de origem animal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos desta pesquisa são menores, pelas medidas que serão adotadas para minimizar os mesmos, mas, por se tratar de uma pesquisa envolvendo degustação de alimentos por meio de análise sensorial, podem haver riscos de alergia e/ou intolerância aos ingredientes dos produtos análogos a filé de peixe a serem experimentados. Os participantes serão informados de todos os ingredientes que serão utilizados para elaborar as amostras, os quais serão GRAS (Geralmente Reconhecidos como Seguros pelas autoridades sanitárias). Todos os ingredientes das amostras serão provenientes de empresas com alvará e/ou registro sanitário das autoridades sanitárias, devidamente rotulados, armazenados e dentro do período de validade. Caso o participante declare que é alérgico e/ou intolerante a algum componente da formulação, ele será impedido de participar da pesquisa. Pode ocorrer que os participantes apresentem aversão, reações alérgicas e/ou intolerância a algum dos ingredientes das amostras por desconhecimento. Se isso ocorrer, serão prestados todos os cuidados e condução imediata para uma unidade de pronto atendimento onde poderá receber os devidos cuidados médicos. Todos os custos e despesas que possam ocorrer nessa situação serão de responsabilidade dos pesquisadores envolvidos no projeto, não cabendo ao entrevistado arcar com nenhuma despesa. Deve-se destacar que o processo metodológico está estruturado de forma a minimizar qualquer tipo de risco que possa vir a acontecer com provadores e pesquisadores. Sendo assim, o participante terá a liberdade de responder ou não aos questionários e fichas de avaliação desta pesquisa, de forma a não lhe causar nenhum constrangimento ou prejuízo e poderão desistir dos testes sensoriais em qualquer

Endereço: Campus Universitário Cx Postal 3037

Bairro: PRP/COEP

CEP: 37.200-900

UF: MG

Município: LAVRAS

Telefone: (35)3829-5182

E-mail: coep.nintec@ufla.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS



Continuação do Parecer: 5.552.956

momento. No momento dos testes sensoriais as amostras passarão por preparo a altas temperaturas: como grelhagem, ou fritura, e serão servidas quentes. Sendo assim corre-se o risco de o provador sofrer algum tipo de queimadura, caso a amostra seja servida a temperaturas acima de 80 °C. Para minimizar esse risco, será advertido, na ficha entregue sobre essa situação, para tomar cuidado no momento de experimentar a amostra. De outro lado os pesquisadores terão o cuidado de servir as amostras em temperatura acima de 60 e abaixo de 75°C, com ajuda de um termopar higienizado, em pratos de porcelana e acompanhadas de talheres higienizados ou guardanapos descartáveis. Ditas temperaturas garantirão a qualidade microbiológica e forma de consumo habitual para esse tipo de alimento. Outros riscos previstos se referem ao cansaço ou fadiga pelo número de amostras a provar, ou, constrangimentos pela não compreensão dos questionários. Para minimizar o cansaço ou fadiga serão oferecidas como máximo 5 amostras por sessão. Para minimizar o constrangimento ou falta de compreensão, as fichas serão o mais simples e didáticas possível, não conterão perguntas pessoais ou constrangedoras e será mantido o sigilo de qualquer informação fornecida pelo participante. As fichas serão explicadas antes do início do teste e dúvidas poderão ser tiradas em qualquer momento pelos provadores. Existe a possibilidade de altas taxas de questionários inválidos, gerados por erros de preenchimento, ou incompreensão dos pesquisados quanto às variáveis de mensuração e falhas dos instrumentos de pesquisa.

Benefícios: Os voluntários não terão nenhum benefício direto pela participação na pesquisa. Os voluntários estarão participando de um estudo científico, compartilhando de suas práticas de consumo e seus conhecimentos sobre alimentos análogos feitos de proteínas alternativas contribuindo para a ciência de alimentos e o desenvolvimento de novos produtos alimentícios. Assim, o presente projeto contribuirá com a sociedade e a indústria de alimentos a partir da disponibilidade de informações sobre as propriedades sensoriais de produtos à base de proteínas fúngicas. Além do mais este estudo oferecerá alternativas de agregação de valor aos cogumelos produzidos em Lavras e região, minimização das perdas pós-colheita, e permitirá a oferta de alternativa de substituição de produtos de origem animal por proteínas de cogumelos, motivando ainda mais indústrias alimentícias a produzirem mais produtos deste segmento e a demanda pelo consumidor flexitariano, vegetariano e vegano.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo para avaliação de características sensoriais e aceitação de produtos

Endereço: Campus Universitário Cx Postal 3037

Bairro: PRP/COEP

CEP: 37.200-900

UF: MG

Município: LAVRAS

Telefone: (35)3829-5182

E-mail: coep.nintec@ufla.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS



Continuação do Parecer: 5.552.956

análogos a peixe produzidos a partir de proteínas fúngicas obtidas de cogumelos. Será recrutado um grupo de 100 provadores frequentadores da Universidade Federal de Lavras para testes de análise sensorial. Vide campo "Conclusões ou pendências e Lista de Inadequações".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Ressalta-se que cabe ao pesquisador responsável encaminhar os relatórios parciais e final da pesquisa, por meio da Plataforma Brasil, via notificação do tipo "relatório" para que sejam devidamente apreciadas no CEP, conforme norma operacional CNS nº001/13, item XI.2.d.

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1977649.pdf	07/07/2022 18:42:51		Aceito
Outros	ADCONrequerimentoNayara.pdf	06/07/2022 14:59:40	OLGA LUCIA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
Outros	PRGrequerimentoNayara.pdf	06/07/2022 14:58:55	OLGA LUCIA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCOEPNayara.pdf	05/07/2022 19:44:15	OLGA LUCIA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
Outros	FichasSensoriaisNayara.pdf	05/07/2022 19:40:58	OLGA LUCIA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLENayara.pdf	05/07/2022 19:36:47	OLGA LUCIA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO_OLGA_assinado.	05/07/2022	OLGA LUCIA	Aceito

Endereço: Campus Universitário Cx Postal 3037

Bairro: PRP/COEP

CEP: 37.200-900

UF: MG

Município: LAVRAS

Telefone: (35)3829-5182

E-mail: coep.nintec@ufla.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
LAVRAS



Continuação do Parecer: 5.552.956

Folha de Rosto	pdf	18:43:24	MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
Outros	PRGDPrequerimentoOlgaassinado.pdf	05/07/2022 18:42:01	OLGA LUCÍA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
Outros	PRPGRequerimentoOlgaassinado.pdf	05/07/2022 18:40:51	OLGA LUCÍA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito
Outros	ComentariosEticosNayara.pdf	05/07/2022 18:33:31	OLGA LUCÍA MONDRAGÓN BERNAL	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

LAVRAS, 29 de Julho de 2022

Assinado por:
ALCINÉIA DE LEMOS SOUZA RAMOS
(Coordenador(a))

Endereço: Campus Universitário Cx Postal 3037

Bairro: PRP/COEP

CEP: 37.200-900

UF: MG

Município: LAVRAS

Telefone: (35)3829-5182

E-mail: coep.nintec@ufla.br

APÊNDICE C

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-COEP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Prezado(a) Senhor(a), você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa de forma totalmente voluntária da Universidade Federal de Lavras. Antes de concordar, é importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento. Será garantida, durante todas as fases da pesquisa: sigilo; privacidade; e acesso aos resultados.

I - Título do trabalho experimental: Avaliação Sensorial de produtos análogos a peixe à base de proteína fúngica.

CAAE: 60509622.7.0000.5148

Número do Parecer: 5.552.956

Pesquisador(es) responsável(is): Prof. Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves¹, Prof.^a Dr.^a Olga Lucia Mondragón-Bernal¹, Dr.^a Ana Alice Andrade Oliveira², Nayara Thalita Ferreira Silva³, Joana Moratto Silva³, Emerson Tokuda Martos⁴.

Cargo/Função: ¹Professores do Departamento de Ciência de Alimentos, ²Engenheira do DCA; ³Mestrandas - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos ²Pós-Doc - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Instituição/Departamento: Universidade Federal de Lavras (UFLA)/Departamento de Ciência dos Alimentos

Telefone para contato: (35) 3829-5292 ou (35) 991226009

Local da coleta de dados: Departamento de Ciência dos Alimentos – Laboratório de Análise Sensorial - Universidade Federal de Lavras (UFLA).

II - OBJETIVOS

Aplicar metodologias de análise sensorial em diferentes formulações de produtos análogos a peixe à base de proteínas fúngicas, para o desenvolvimento de protótipos com aceitação sensorial pelo público alvo.

III – JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento de análogos a filés de peixe visa o desenvolvimento de uma ou mais alternativas de processamento de cogumelos, para ofertar aos consumidores vegetarianos, veganos e/ou flexitarianos produtos práticos e saudáveis em gôndolas de venda convencionais, análogos aos de origem animal como fonte alternativa de proteínas. Ainda, pretende-se auxiliar diretamente os produtores do alimento no aproveitamento de seus excedentes, evitando perdas do produto tanto nas propriedades quanto nas gôndolas e possibilitará uma melhor rentabilidade, diminuindo despesas financeiras, impactos socioambientais e apoiando os produtores locais ou regionais.

IV - PROCEDIMENTOS DO EXPERIMENTO

Campus Universitário da UFLA, Caixa Postal 3037
37200-000 Lavras-MG – Brasil
E-mail: coep@mintec.ufla.br

Fone 35 3829 5182
CNPJ: 22.078.679/0001-74
Site: http://www.prp.ufla.br/site/?page_id=440

APÊNDICE D

Ficha utilizada na avaliação sensorial dos análogos de peixe frito.

PROVADOR: _____ e-mail: _____ DATA: ____/____/____

Você é consumidor habitual de peixe? Sim _____ Não _____

Você está recebendo entre 4 e 5 amostras codificadas de análogos de peixe frito e temperado somente com sal. Observe e experimente cada amostra separadamente iniciando pela aparência, aroma, textura e sabor. No quadro coloque as características/adjetivos positivos e negativos na sensação sensorial que cada amostra lhe cause a respeito desses parâmetros. Consuma um pedaço de bolacha e enxague o palato entre as amostras. Faça os comentários que considere relevantes, sensações sobre sabores, ingredientes, texturas, lembrança de algum peixe, ou outros comentários assertivos (Use o verso se necessário).

* Escolha as 5 melhores amostras que considera aptas para sensorial com público alvo maior, marque X

Cód. amostra	Característica	Comentários	Positivos (+)	Negativos (-)	*Apta
	Aparência Aroma Textura Sabor				
	Aparência Aroma Textura Sabor				
	Aparência Aroma Textura Sabor				
	Aparência Aroma Textura Sabor				
	Aparência Aroma Textura Sabor				
	Aparência Aroma Textura Sabor				
	Aparência Aroma Textura Sabor				
	Aparência				

APÊNDICE E

Fotos da matéria- prima, dos experimentos e dos resultados da pesquisa

Cogumelo hiratake



Fonte: Autoral, 2023.

Chapéus de hiratake antes e após o tratamento térmico





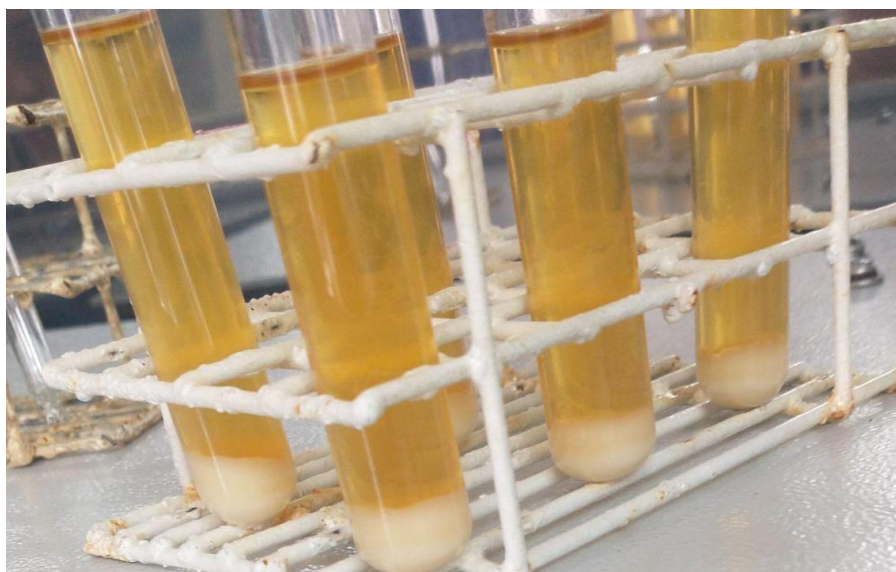
Fonte: Autoral, 2023.

Estipes trituradas antes e após o branqueamento



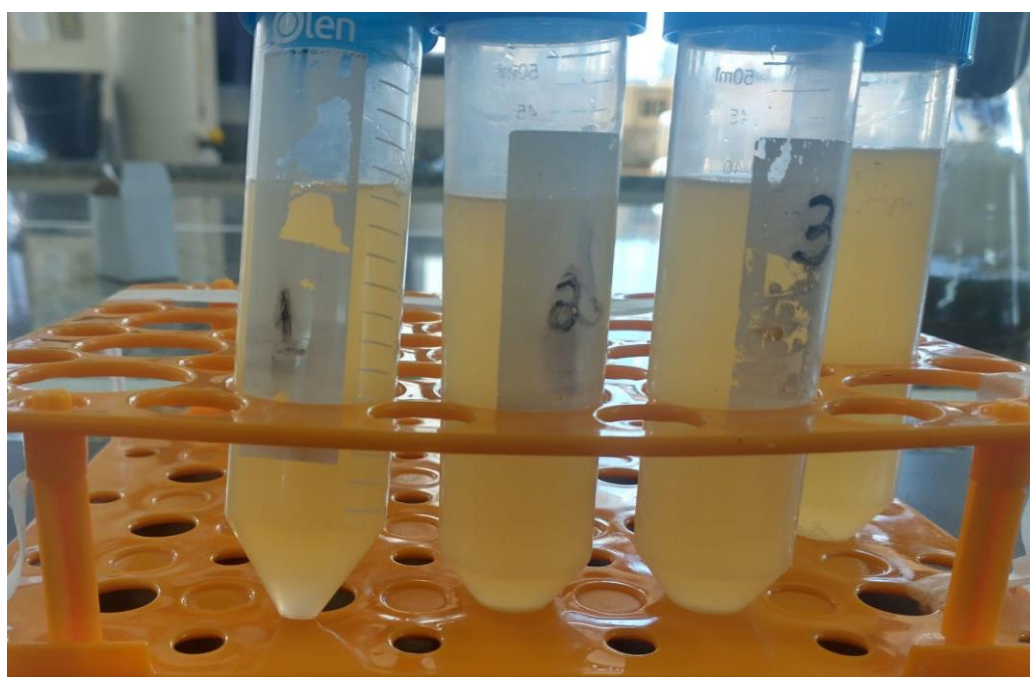
Fonte: Autoral, 2023.

Pré inóculo após propagação



Fonte: Autoral, 2023.

Inóculo usado para realização da curva de crescimento



Fonte: Autoral, 2023.

Estipes processadas (forma de lascas) e trituradas (forma de purê)



Fonte: Autoral, 2023.

Tratamentos após a mistura dos insumos armazenados em embalagens plásticas e armazenadas em estufas BOD



Fonte: Autoral, 2023.

Tratamentos incubados 37°C/24h



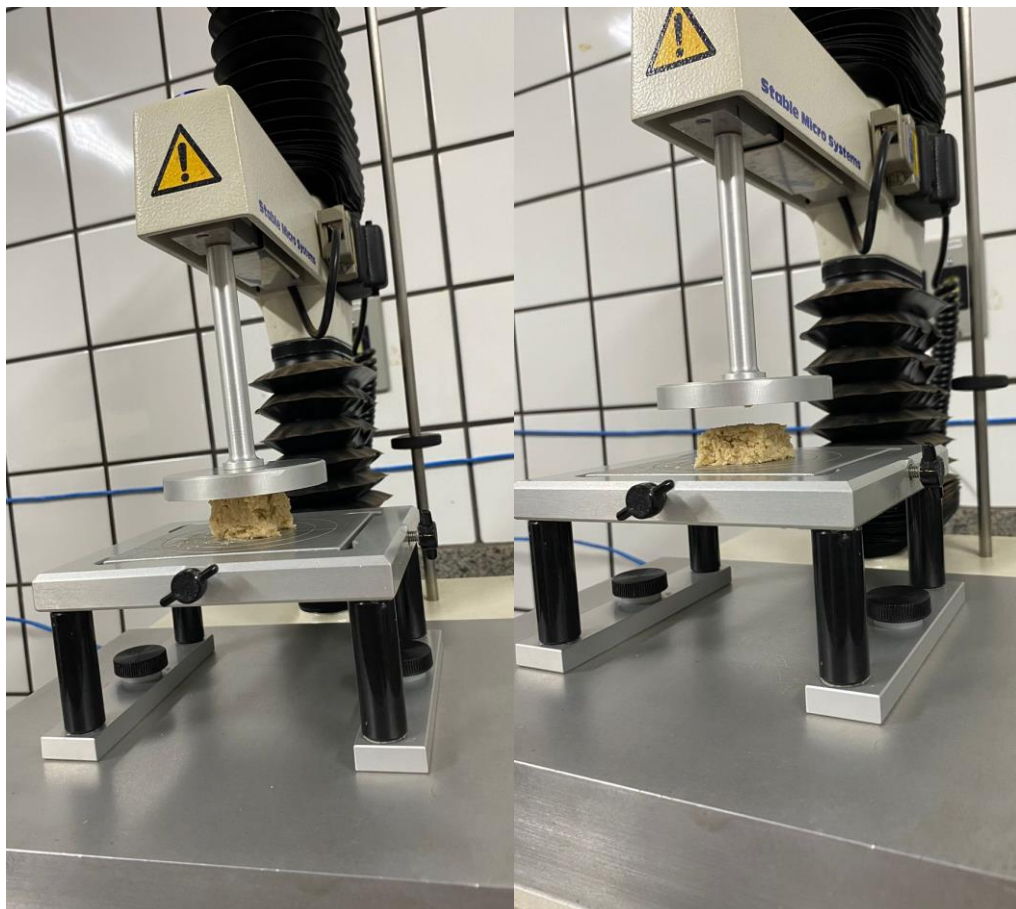
Fonte: Autoral, 2023.

Tratamento após a fermentação



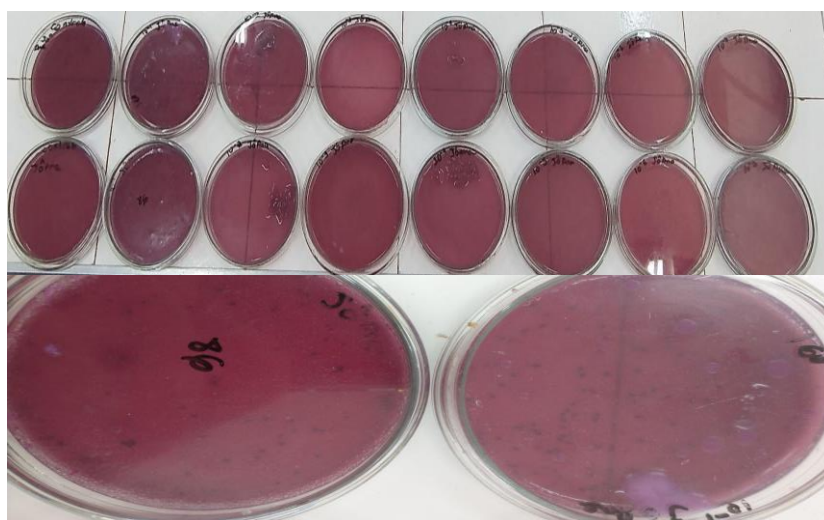
Fonte: Autoral, 2023.

Amostra antes e após o contato com a probe



Fonte: Autoral, 2023.

Plaqueamento de enterobactérias do cogumelo hiratake *in natura*



Fonte: Autoral, 2023.