

MATEUS DA SILVA JUNQUEIRA

CONSERVAÇÃO DO COGUMELO SHIITAKE POR CONGELAMENTO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

MATEUS DA SILVA JUNQUEIRA

CONSERVAÇÃO DO COGUMELO SHIITAKE POR CONGELAMENTO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de novembro de 2004.

Prof^ª Maria Catarina Megumi Kasuya
(Conselheira)

Prof^ª Maria Cristina Dantas Vanetti
(Conselheira)

Prof. Maurício Dutra Costa

Prof^ª. Míriam Teresinha dos Santos

Prof. Marco Túlio Coelho Silva
(Orientador)

A Deus.

A minha mãe Therezinha, pela paciência e por sempre confiar em mim, e ao meu pai José João, pelo exemplo de luta, e por ter me ensinado a dignidade do trabalho.

Aos meus irmãos, Ana Cláudia, Henrique e Túlio, pelo apoio.

À Maize, por ser parte da minha vida, pelo carinho e pelo estímulo.

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão do meu trabalho,

Com muito carinho e amor, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que eu realizasse este trabalho, dando-me forças para superar os momentos mais difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade oferecida para a realização deste Curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Marco Túlio Coelho Silva, pela significativa orientação e paciência, pelos conselhos profissionais e principalmente pelo companheirismo e dedicação.

À professora Maria Catarina Megumi Kasuya, pela oportunidade do trabalho com o cogumelo shiitake, pelo auxílio e ensinamentos neste trabalho e pela amizade.

À professora Maria Cristina Dantas Vanetti, pelas valiosas sugestões e críticas, dedicação e incentivo durante todo o trabalho.

Ao professor Maurício Dutra Costa e à professora Míriam Teresinha dos Santos, pela leitura da tese e pelas valiosas sugestões.

Às professoras Helena Maria Pinheiro e Maria Cristina Bacarat, pela ajuda indispensável.

Aos professores José Carlos Gomes, Antônio Carlos Gomes de Souza, Frederico José Vieira Passos e José Benício Paes Chaves, pelas constantes sugestões, conversas, experiência e ajuda.

Aos demais professores do DTA, pelo auxílio e conhecimento transmitido.

Aos funcionários do DTA, especialmente Adão Martins, Lígia Santana Pontes Fialho, Almiro Brás Lino, Luiz Gonzaga da Silva, Maria Geralda Campos da Costa, Manoel Anacleto Pires, Maria Rita Cardoso Fontes, Vânia Santos Lima, Valério Poletto e Sueli de Carvalho, pela atenção e ajuda dispensada e pelos serviços prestados.

À professora Silvana, da Faculdade de Viçosa, pela inestimável ajuda nas análises estatísticas.

Aos amigos de laboratório Maurício, Junio, Max e Giulliano, pela ajuda sempre presente, companheirismo e amizade.

Aos amigos do Laboratório de Micorrizas, Akihiko, Cristiane, Gilmara, Daniela, André Marques, Ricardo, e todos os demais, pela ajuda, paciência e amizade.

Aos amigos de Viçosa, Marcelo, João Marcelo, Adriano e Frederico, pelos momentos inesquecíveis, com os quais dividi alegrias, incertezas e aprendizado.

A toda minha família, principalmente ao vô Zizinho e Tio Beto, pelo incentivo e confiança.

A todas as pessoas que se fizeram presentes nesta etapa, e que de alguma forma me ajudaram e apoiaram neste trabalho.

BIOGRAFIA

MATEUS DA SILVA JUNQUEIRA, filho de José João Junqueira e Therezinha Maria da Silva Junqueira, nasceu em Salvador, Bahia, no dia 18 de agosto de 1977.

Concluiu o Ensino Médio no Colégio Universitário (Coluni / UFV) no ano de 1995.

Graduou-se em Engenharia de Alimentos no ano de 2002 pela Universidade Federal de Viçosa.

Concluiu o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa em 11 de novembro de 2004.

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1 - INTRODUÇÃO	12
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. Produção e comercialização de cogumelos.....	14
2.2. Composição do cogumelo shiitake	17
2.3. Processos de conservação de cogumelos.....	18
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1. Matéria-prima.....	28
3.2. Processamento	28
3.2.1. Seleção e lavagem	29
3.2.2. Sanitização	30
3.2.3. Branqueamento e tratamento com antioxidantes	30
3.2.4. Centrifugação	31
3.2.5. Acondicionamento, congelamento e armazenamento	31

3.3. Delineamento Experimental.....	32
3.4. Análises microbiológicas e físico-químicas.....	33
3.4.1. Análise microbiológica	33
3.4.2. pH.....	33
3.4.3. Perda de Água.....	34
3.4.4. Cor.....	34
3.4.5. Atividade de polifenol oxidase (PPO)	34
3.4.6. Textura	35
3.4.7. Vitamina D ₂	35
3.5. Análise estatística dos resultados.....	36
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. Viabilidade do branqueamento e concentração de antioxidantes.....	37
4.2. Variação da temperatura durante o tempo de armazenamento.....	39
4.3. Efeito dos tratamentos sobre o cogumelo shiitake congelado	40
4.4. Efeito da sanitização e do tempo de armazenamento sobre a microbiota contaminante.....	40
4.5. Efeito do tempo de armazenamento sobre o cogumelo shiitake	41
4.6. Efeito do método de congelamento sobre o cogumelo shiitake.....	45
4.6.1. Perda de Água.....	45
4.6.2. Vitamina D	46
4.6.3. Textura	47
5 - RESUMO E CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS	60

RESUMO

JUNQUEIRA, Mateus da Silva. Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2004. **Conservação do cogumelo shiitake por congelamento**. Orientador: Marco Túlio Coelho Silva. Conselheiras: Maria Catarina Megumi Kasuya e Maria Cristina Dantas Vanetti.

O objetivo deste estudo foi avaliar pré-tratamentos e processos de congelamento para a conservação de cogumelo *Lentinula edodes* "shiitake". Características físico-químicas e microbiológicas de cogumelos obtidos de produtores da região de Viçosa, colhidos, transportados em caixas com gelo e processados no mesmo dia foram avaliadas a cada trinta dias durante o período de armazenamento de quatro meses. As etapas do processamento foram: seleção, lavagem em água corrente, sanitização com produto organoclorado, branqueamento ou adição de antioxidante, centrifugação para eliminar o excesso de água, seguidas de embalagem e congelamento lento em congelador doméstico ("freezer") ou congelamento rápido com Nitrogênio líquido e embalagem . As amostras congeladas foram armazenadas em congelador doméstico ("freezer") a -18°C. O branqueamento não foi satisfatório porque provocou perda de água excessiva e perda de textura, resultando em cogumelos com aparência indesejável. O tratamento com composto organoclorado e a adição de antioxidantes foram mais efetivos na manutenção da qualidade dos cogumelos durante o armazenamento, com maior redução da

microbiota inicial, apresentando após o descongelamento, valores de textura e pH mais próximos aos dos cogumelos frescos. Sem o branqueamento, a atividade das Polifenol Oxidases (PPOs) das amostras congeladas aumentou ao longo do tempo causando escurecimento dos cogumelos e redução dos valores de L^* porém as amostras congeladas com nitrogênio líquido apresentaram, durante todo o período de armazenamento, menor perda de vitamina D e de água, melhor textura e aparência que aquelas congeladas pelo método lento. Até o primeiro mês de armazenamento, para as amostras congeladas pelo processo tradicional e até o segundo mês, para as amostras congeladas pelo processo rápido, as características organolépticas dos cogumelos depois de descongelados foram consideradas satisfatórias, mas após esses períodos os cogumelos começaram a apresentar escurecimento, mau cheiro e perda de textura inaceitáveis.

ABSTRACT

JUNQUEIRA, Mateus of Silva, M.S., Universidade Federal de Viçosa, November, 2004. **Conservation of the shiitake mushroom for freezing.** Adviser: Marco Túlio Coelho Silva. Committee Members: Maria Catarina Megumi Kasuya and Maria Cristina Dantas Vanetti.

This experiment was conducted to evaluate pre-processing and freezing conditions for the preservation of *Lentinula edodes* mushrooms ("Shiitake"). Mushrooms cultivated in areas near by Viçosa-MG were collected, kept in ice-boxes during transportation and processed in the same day. Frozen samples stored for four months in domestic freezers (-18 °C) were evaluated with 30 days intervals. Pre-processing included selection, washing in running water, sanitization with an organic chlorinated product, blanching or antioxidant addition and centrifugation to eliminate excess water, followed by packaging and "conventional freezing" in a domestic freezer or "Individual quick freezing" (IQF) with liquid Nitrogen followed by packaging. Blanching was not satisfactory because of excessive water and textures losses producing mushrooms with bad appearance. Treatment with chlorinated product and antioxidant addition were more effective for keeping the quality of frozen samples, with lower microbial counts and, after thawing, texture, color and pH closer to those of fresh mushrooms. Without blanching, activity of PPO increased during storage causing darkening of the frozen mushrooms and reducing L* values. Samples frozen by IFQ presented smaller losses of Vitamin D and water and better texture and appearance than those processed by conventional freezing. After thawing the quality of the mushrooms frozen by the slow process was better than acceptable for 30 days while the quality of the mushrooms

frozen by IFQ was better than acceptable for 60 days (IFQ better, always). After those periods, the frozen samples started to show excessive losses texture, darkening, off-flavor and chiefly obnoxious smell.

1 - INTRODUÇÃO

Os cogumelos são a estrutura de reprodução sexuada dos fungos. Entre as mais de 10.000 espécies de fungos que produzem cogumelos, aproximadamente, 2.000 são consideradas comestíveis, mas apenas 25 são cultivadas com finalidade comercial. Atualmente, a espécie mais cultivada é *Agaricus bisporus* (champignon), seguida das espécies *Pleurotus ostreatus* (cogumelo de ostra) e *Lentinula edodes* (shiitake).

São considerados alimentos de alto valor nutritivo e terapêutico, sendo o consumo e a comercialização parte da história de várias civilizações. Tornaram-se, portanto, produtos de alto valor agregado, com produção e mercado em expansão.

Geralmente, os cogumelos são comercializados frescos ou desidratados, mas, aproximadamente, um quarto da produção de champignon é processada para a produção de conservas em lata ou vidro. Uma pequena parte da produção é congelada.

O shiitake é comercializado, predominantemente, “in natura”, e mesmo sob refrigeração tem vida de prateleira de apenas três a seis dias. As formas desidratadas perdem qualidades organolépticas, principalmente sabor, textura e cor. O congelamento pode ser uma forma de aumentar o tempo de preservação do shiitake. O congelamento diminui a atividade da água, inibindo, mas não inativando a maioria dos agentes responsáveis pela deterioração dos

alimentos, quando à temperatura ambiente, sem causar grandes alterações nas qualidades organolépticas ou nutricionais, desde que conduzido adequadamente.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o processamento e o congelamento do shiitake, tendo em vista a melhor preservação da qualidade e o maior tempo de armazenamento.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Cogumelos são a estrutura de reprodução sexuada de alguns tipos de fungos (STAMETS e CHILTON, 1983) e, embora existam aproximadamente 10.000 espécies de fungos que produzem cogumelos, apenas 2.000 são consideradas comestíveis (CHANG, 1999).

Destas, as mais importantes são produzidas por fungos pertencentes aos filos Basidiomycota e Ascomycota. Dos Ascomycota, o mais conhecido é a trufa, fungo micorrízico que forma associação mutualista com raízes de árvores como o carvalho, necessária para que ocorra a frutificação. É encontrado principalmente em algumas regiões da França e da Itália. Das poucas espécies de cogumelos cultivadas com finalidade comercial, cerca de 25 são pertencentes ao filo Basidiomycota, das quais a maior parte se enquadra na ordem Agaricales, a exemplo das espécies *Agaricus bisporus*, o champignon, e *Lentinula edodes*, o shiitake (CHANG, 1980; CHANG e MILES, 1987).

2.1. Produção e comercialização de cogumelos

No ano 2000, a produção mundial de cogumelos foi estimada em 2,4 milhões de toneladas, destacando-se como maiores produtores a China, com 708 mil toneladas e os EUA, com 390 mil toneladas (VILELA, 2003). A Holanda, terceiro produtor mundial, foi o maior exportador, com 63,7 mil toneladas, seguida da China, com 50,1 mil toneladas. Os maiores importadores

foram a Inglaterra, a Alemanha e o Japão, que importaram 59,4 mil, 43,5 mil e 35,2 mil toneladas, respectivamente (FAO – NASS, 2003).

As espécies de cogumelos comestíveis mais cultivadas no mercado mundial são divididas em dois grupos de produtos: o grupo do champignon (White botton – *A. bisporus*), a espécie mais explorada e comercializada; e o grupo dos cogumelos exóticos ou especiais, que engloba espécies como *Auricularia* spp., *Flamulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Hypsizygyus marmoreus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus* spp., *Pholiota nameko*, *Tremella fuciformis* e *Volvariella* spp. As escalas de produção e comercialização do segundo grupo são muito menores do que as do primeiro (CHANG, 1980; 1995 e VILELA, 2003).

O champignon, que representa 38% do volume total de cogumelos produzidos no mundo, é o mais importante e o mais difundido, seguido pelas várias espécies de *Pleurotus* spp. que, somadas, representam cerca de 25% da produção mundial. Essas espécies são bastante difundidas em vários países, com destaque para China, primeiro produtor. As principais espécies cultivadas são *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. cystidus* e *P. citrinopileatus* (FAO, NASS; 2003).

O shiitake detém o terceiro lugar em volume de produção e representa 10% do total mundial.

No Brasil, os dados de produção de cogumelos ainda são escassos (VILELA, 2003). A região do Alto Tietê, em São Paulo, destaca-se como maior produtor. Estima-se que, na safra do ano 2000, a produção chegou a 2,5 mil toneladas, volume que corresponde a 80% da produção nacional ou 0,12% da produção mundial. Cerca de 90% do cogumelo produzido no Brasil é o champignon. O clima excessivamente quente, na maior parte do ano, é o maior obstáculo para a produção em escala comercial da maioria das outras espécies de cogumelos. As exceções são o cogumelo shiitake e o cogumelo do sol, por serem capazes de crescer em temperaturas mais altas (VILELA, 2003).

O champignon é encontrado no mercado nacional nas formas fresco ou cozido. O preço pago pelas indústrias aos produtores, para o cogumelo fresco, a granel, varia entre R\$ 3,00 e R\$ 3,50 o quilo. Para o cogumelo cozido, a granel, entre R\$ 5,00 e R\$ 5,50 o quilo. O preço no varejo pode alcançar

R\$ 8,00 para o quilo de cogumelo fresco e R\$ 12,00 para o quilo de cogumelo cozido, dependendo do tipo de classificação e embalagem (VILELA, 2003).

No Brasil, o shiitake, normalmente, é comercializado fresco, embalado em bandejas, sendo pequena parte, menos de 10%, desidratada ou industrializada. O preço pago pelos atacadistas aos produtores por quilo de produto varia de R\$ 10,00 a R\$ 12,00 para o cogumelo fresco, a granel, de R\$ 12,00 a R\$ 14,00 para o produto embalado e R\$ 45,00 a R\$ 50,00, para o produto desidratado a granel (VILELA, 2003).

O fungo *L. edodes* (ou shiitake) pertence ao filo Basidiomycota, ordem Agaricales, família Tricholomataceae. Produz o cogumelo conhecido pelos chineses como “shiang-gu” ou “hoang-mo”, e pelos japoneses como “shiitake” (TSUNEDA, 1994). É um decompositor primário, que habita naturalmente a madeira de várias espécies de árvores sob diferentes condições climáticas (PRZYBYLOWICZ e DONOGHUE, 1990). A produção de shiitake é um exemplo de bioconversão da madeira e de outros materiais lignocelulósicos que constituem grande parte da biomassa renovável em alimentos ou produto de interesse (BUSWELL et al., 1996).

A produção mundial de shiitake aumentou cerca de sete vezes no período de 1983 a 1997, passando de 207.000 toneladas para 1.573.000 toneladas. O maior aumento ocorreu na China, onde mais de 10 milhões de fazendeiros produzem cogumelos shiitake (WANG, 1998; CHANG, 1999). Nos Estados Unidos, embora a produção de cogumelos seja relativamente recente, tendo se iniciado no final da década de 70, foram produzidas 1.123 toneladas de shiitake no ano de 1992; e, em 1999, a produção atingiu 3.941 toneladas, registrando um aumento de 3,5 vezes (FAO, NASS, 2003).

No Japão, na China e em alguns países da Europa, o shiitake é comumente cultivado em troncos de carvalho ou de castanheiras (CHANG e MILES, 1987; TSUNEDA et al., 1991; TSUNEDA, 1994). Nos EUA, no Canadá, em Formosa e em Singapura, a produção é feita, principalmente, em substratos à base de serragem, utilizando-se sacos plásticos de polipropileno ou de polietileno, no processo chamado de cultivo em tora artificial (OHGA, 1992; MATA e SAVOIE, 1998). No Brasil, seu cultivo é feito principalmente em troncos de eucalipto (FERREIRA, 1998).

A comercialização é feita no atacado principalmente na forma fresca, a granel; e no varejo em bandejas envoltas em filme de PVC. Menos de 5% da produção é comercializada na forma desidratada. No varejo, foram encontradas apenas duas marcas de cogumelo cozido, embalado em vidros de 200 g (VILELA, 2003). Não há referências sobre produção ou venda do produto congelado.

2.2. Composição do cogumelo shiitake

O cogumelo shiitake fresco contém 85 a 95% de água. Na matéria seca, o teor de proteínas varia de 10 a 29%, o de carboidratos de 43 a 78%, o de minerais de 2,6 a 6,5% e o de lipídeos é menor do que 2%. O shiitake também é rico em vitaminas como a tiamina, a riboflavina, a niacina, a biotina, o ácido ascórbico e o ergocalciferol (vitamina D). As proteínas contêm todos os aminoácidos essenciais em concentrações adequadas para a nutrição humana, especialmente a leucina e a lisina (CHANG, 1980; PRZYBYLOWICZ e DONOGHUE, 1990; TAKAMURA et al., 1991; CHANG e BUSWELL, 1996).

Cogumelos acumulam uma grande variedade de metabólitos secundários, incluindo compostos fenólicos, terpenos, esteróis, entre outros. Os compostos fenólicos de cogumelos têm sido estudados por serem excelentes antioxidantes sinérgicos e não-mutagênicos. Estão entre os principais grupos de componentes não-essenciais na dieta, associados com a inibição de aterosclerose e do câncer (CHEUNG et al., 2003).

Diversos compostos biologicamente ativos e com propriedades medicinais têm sido isolados e purificados a partir do shiitake ou do meio onde o cogumelo é cultivado. Um composto com atividade antimicrobiana, a lentinamicina (octa-2,3-diene-5,7-diyne-1-ol), foi isolado e purificado de culturas líquidas de *L. edodes* (BEW et al., 1966). O lentinano, isolado e purificado do corpo de frutificação, apresentou atividades antitumorais contra células de sarcoma (CHIHARA et al., 1969; DRESSER e PHILLIPS, 1974; CHIHARA, 1978; SUGA et al., 1984; SUZUKI et al., 1994; GOTO et al., 1994). A lentinacina (2(R), 3(R)-dihidroxi-4-(9 adenil)-ácido butírico), também conhecida como eritadenina, possui propriedades antivirais (CHIBATA et al. 1969) e hipocolesterolêmicas (SUGIYAMA et al., 1993; 1995). FUJII et al. (1978)

isolaram e caracterizaram na massa micelial um polissacarídeo com atividade antitumoral.

2.3. Processos de conservação de cogumelos

Em razão de suas qualidades nutricionais e terapêuticas, a demanda pelo cogumelo shiitake tem aumentado, o que gera a necessidade de conservar o produto, para aumentar a vida útil e poder disponibilizá-lo em formas e tempos diferentes.

Para avaliar os efeitos dos métodos de conservação sobre o alimento, são analisados os atributos de qualidade do produto. A qualidade do produto fresco inclui a aparência (tamanho, forma, cor, brilho, ausência de defeitos e deterioração); a textura (firmeza, crocância e dureza, dependendo do alimento); sabor (doçura, acidez, adstringência, aroma, e odores); e o valor nutricional (vitaminas, minerais, fibra dietética e micronutrientes) (KADER, 2001).

Durante o processamento dos alimentos, a cor, a textura, o *flavor* e as qualidades nutricionais são alterados em razão de processos bioquímicos, crescimento excessivo de microrganismos, injúrias físicas e perda de água (JAYAS e JEYAMKONDAN, 2002; GIMENEZ et al., 2000). O processamento pode, também, provocar desordens fisiológicas, diminuindo, assim, a vida de prateleira dos produtos (KADER, 1986).

A importância relativa de cada componente de qualidade depende do alimento e do interesse do indivíduo (KADER, 1992). Embora os consumidores comprem um produto atraídos pela aparência e qualidade de textura, as compras posteriores dependem da satisfação quanto ao sabor (gosto e aroma), além de atributos que promovem a saúde e da qualidade nutricional (KADER, 1988).

Segundo ASHIE e SIMPSON (1996), a textura é considerado um dos mais importantes atributos dos alimentos, que determina a aceitabilidade e, conseqüentemente, o resultado do mercado de seus produtos. Para a inativação de polifenoloxidasas (PPOs), grupo de enzimas que provocam o escurecimento dos cogumelos, processos térmicos são limitados, porque provocam perdas nas qualidades sensoriais e nutritivas dos produtos alimentícios (SUN et al., 2002).

Cogumelos são alimentos altamente perecíveis, caracterizados pelo curto período de vida útil, que varia de um a três dias, a temperatura ambiente, em razão da ocorrência de mudanças pós-colheita e tendem a perder rapidamente seus principais atributos (KUYPER et al., 1993; BRENNAN et al., 2000; MANZI et al., 2004). Essas mudanças ocorrem em razão do alto teor de umidade e da alta atividade de enzimas como proteases e polifenoloxidasas, responsáveis, respectivamente, pelo decréscimo de proteínas e pelas deteriorações sensoriais (KUYPER et al., 1993; SIGRIST, 2002).

Muitos métodos, como a adição de antioxidantes e a exclusão do oxigênio, assim como processos térmicos, vêm sendo usados para inibir perdas e escurecimento enzimático (GOMES e LEDWARD, 1996; SUN et al., 2002). No processamento de frutas e vegetais, as enzimas são inativadas antes do congelamento por tratamento térmico, como o branqueamento, ou por tratamento químico (POTTER e HOTCHKISS, 1995).

Uma prática muito comum no processamento de cogumelos é a lavagem dos mesmos, com a finalidade de melhorar a aparência, porque restos da terra e sujidades podem cobrir os cogumelos. Durante a lavagem, os cogumelos podem absorver água em excesso. SANTANA (2003) demonstrou que a água incorporada pela lavagem do shiitake poderia ser removida com a centrifugação de porções de 250g, por dois minutos.

Para melhorar a eficácia da lavagem, são adicionados tratamentos com substâncias químicas, como hipoclorito de sódio (NaOCl), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e outros sanificantes, como antioxidantes (KUYPER et al., 1993; REYES, 1996; CARDONA, 2001).

O cloro é o sanificante mais utilizado para alimentos. Os compostos à base de cloro são bactericidas que reagem com as proteínas da membrana da célula microbiana, interferindo no transporte de nutrientes, e promovendo a perda de componentes celulares (PILON, 2003). O hipoclorito de sódio é um dos produtos mais amplamente utilizados para evitar desordens, como o escurecimento, que aparecem em cogumelos após a colheita (CARDONA, 2001) sendo usado em concentrações de 50 a 200 mg L⁻¹ para sanificar vegetais frescos (PILON, 2003). SANTANA (2003) obteve uma redução de, aproximadamente, 2 ciclos logarítmicos para cogumelos shiitake tratados com

o sanitizante a base de cloro Sumaveg[®], quando comparados com cogumelos não sanitizados.

Assim como o cloro, os ácidos orgânicos se encontram entre os mais utilizados na sanitização de alimentos. O efeito bactericida existente em todos os ácidos orgânicos, principalmente nos ácidos cítrico e ascórbico, decorre tanto do decréscimo do pH, abaixo do intervalo de crescimento dos microrganismos, quanto da inibição do metabolismo microbiano pelas moléculas de ácido não-dissociadas (MARSHALL et al., 2000; BRENNAN et al., 2000).

Ácido cítrico é o um dos acidulantes mais amplamente usados na indústria de alimentos. É tipicamente aplicado em concentrações que variam de 0,5 a 2% (p/v) para a prevenção de escurecimento em cogumelos (BRENNAN et al., 2000). Além disso, é freqüentemente usado em combinação com outros agentes de antiescurecimento, como ácido ascórbico ou ácido eritórbico e os sais neutros dos mesmos, como quelante de pró-oxidantes e para a inativação da polifenoloxidase (MARSHALL et al., 2000). SANTANA (2003) observou que cogumelos shiitake tratados com ácido cítrico e ácido ascórbico apresentaram menor atividade de PPOs e menor escurecimento, quando comparados aos cogumelos não tratados.

O ácido ascórbico pode intervir de duas maneiras no escurecimento interno:

- a) reduzindo as quinonas formadas pela ação das oxidases, transformando-se em ácido dehidroascórbico (que também é ativo) e, desta forma, impedindo a formação dos produtos escurecidos;

- b) pode agir como inibidor das enzimas oxidativas (CARVALHO e ABREU, 2000; BEZERRA et al. 2002).

A competitividade de mercado tem levado estudiosos (NARVAIZ, 1994; BRENNAN et. al 1999, 2000; BEAULIEU et al., 2002), entre muitos outros, a analisarem métodos e, ou tecnologias que retardem a degradação de cogumelos, incluindo avaliações de resfriamento, branqueamento, embalagem, exclusão de oxigênio, tratamento químico com antioxidantes e sanitizantes, armazenamento em atmosfera modificada, irradiação, alta pressão, congelamento, desidratação, entre outros.

Foi estudado o efeito da radiação sobre a textura e a perda de água de cogumelos, armazenados durante 14 dias sob refrigeração a 10°C, concluindo que a irradiação não produz efeitos nos cogumelos, nos parâmetros analisados durante o prazo proposto (NARVAIZ, 1994). BEAULIEU et al. (2002) estudaram o mesmo método, mas analisando o escurecimento enzimático, através da medida de cor e atividade de polifenoloxidasas, conseguindo estender o prazo de validade em até quatro dias.

O efeito da alta pressão em cogumelos também foi pesquisado, analisando-se PPOs, notando que foi eficaz na coloração do produto, mas que somente o uso da alta pressão não é suficiente para garantir a qualidade do produto como um todo (GOMES e LEDWARD, 1996), e textura, cor e PPO, por MATSER et al. (2000), onde encontraram que a utilização da alta pressão é melhor do que o branqueamento em todos os índices de qualidade analisados.

O efeito da utilização de ácido cítrico e peróxido de hidrogênio na preservação de cogumelos sob refrigeração foi estudado, analisando a cor, a textura e o crescimento microbiano, observando que a efetividade foi maior quando o cogumelo foi tratado com ácido cítrico, ainda mais quando os cogumelos são fatiados antes de receber o tratamento (BRENNAN et al., 2000). O efeito do processo de enlatamento, na cor, a atividade de PPOs e perda de peso dos cogumelos também foi pesquisado, notando que o branqueamento conseguiu reduzir a atividade de PPOs significativamente, e que o uso do ácido ascórbico implicou em melhor aceitabilidade pelo consumidor, em razão da cor mais clara, sem comprometimento do pH do produto (QUINTANA et al., 1999).

A utilização de temperaturas abaixo do ponto de congelamento após a colheita seria necessária para reduzir o desenvolvimento continuado dos cogumelos. Na prática, os cogumelos devem ser pré-resfriados a temperaturas de, no mínimo, 2 a 4°C imediatamente após a colheita, utilizando-se gelo para reduzir a temperatura ainda no campo. Deve-se ter o cuidado de colher os cogumelos quando mais frescos, com os chapéus ainda fechados, para se manter a qualidade por mais tempo, estendendo a vida de prateleira.

Problemas mais comuns incluem a abertura do chapéu e o amolecimento. Sendo a estrutura frágil, os cogumelos são danificados facilmente através de manipulação áspera, tornando-se marrom-escuros

(MARSHALL et al., 2000). Segundo GORMLEY (1986), os cogumelos possuem um sistema de enzimas muito ativo, as quais, ao serem liberadas, iniciam reações diversas, especialmente os danos físicos e, além desses, o *flavor* e o valor nutricional (MARSHALL et al., 2000). Apenas quando os cogumelos estiverem em temperaturas abaixo de -20°C , o escurecimento tornar-se-á lento no produto congelado.

Apesar da importância, ainda são muito limitadas as informações sobre o congelamento do cogumelo shiitake. A maior parte desses estudos refere-se ao congelamento de cogumelos champignon. Para esse cogumelo, as etapas do congelamento são semelhantes às aquelas usadas para congelamento de vegetais, incluindo seleção e lavagem, branqueamento ou tratamento químico e o próprio congelamento (LUH, et al., 1975; HUANG e LEE, 1997; FONTES e LOPES, 1992).

Os cogumelos congelados podem durar alguns meses sem maiores perdas de qualidade. Os fungos, as leveduras e a maioria das bactérias são inativadas, e, para a inativação das enzimas, deve-se fazer um pré-tratamento, como branqueamento ou adição de antioxidantes, como ácido cítrico (CARDONA, 2001).

A velocidade de congelamento, a temperatura de armazenamento e a estabilidade da temperatura são consideradas fatores essenciais para a preservação do alimento congelado. Porém, além das condições do alimento fresco, a tecnologia do pré-tratamento, antes do congelamento, também é muito importante (ZANG et al., 2003).

Cogumelos contêm grande quantidade de água e por isso ocorre considerável perda de peso durante o transporte e a estocagem. Isto, por sua vez, causa sérias perdas econômicas e de qualidade. Quando a fonte de água, minerais e nutrientes é cortada na colheita, o cogumelo entra em deterioração ou fase perecível (NUSSINOVITCH e KAMPF, 1993).

O armazenamento em baixas temperaturas, imediatamente após a colheita, é um dos métodos mais utilizados para prolongar a conservação dos alimentos (BRON et al., 2002). Com a redução da temperatura, as reações enzimáticas, principalmente as associadas à respiração e senescência, ocorrem mais lentamente. A diminuição da atividade respiratória, principal

processo fisiológico pós-colheita, propicia menores perdas de aroma, sabor, textura, cor e outros atributos de qualidade dos alimentos (BRON et al., 2002).

O congelamento rápido tem sido considerado uma das mais importantes tecnologias de preservação de alimentos. A temperatura do alimento é reduzida até o ponto de congelamento, em um tempo muito curto, para que o frescor, a cor, o sabor e a qualidade nutricional originais possam ser mantidos (ZANG et al., 2003).

O congelamento tem sido um fator importante em disponibilizar alimentos de conveniência (semiprontos) para domicílios, restaurantes e estabelecimentos de alimentação institucional. O congelamento, corretamente feito preserva os alimentos sem causar mudanças significativas no seu tamanho, na forma, na textura, na cor e no sabor, permitindo que a maior parte do trabalho corresponda à preparação do alimento antes do congelamento (POTTER e HOTCHKISS, 1995).

A preservação de alimentos por congelamento acontece por vários mecanismos. A redução da temperatura do produto para valores abaixo de 0°C causa redução significativa nas taxas de crescimento de microrganismos e a deterioração correspondente do produto em razão da atividade microbiana (SINGH e HELDMAN, 1993). A mesma influência de temperatura se aplicará à maioria de outras reações que, normalmente, poderiam acontecer no produto, como reações enzimáticas e de oxidação (SINGH e HELDMAN, 1993). Esses autores afirmam que, no momento, nenhuma forma de preservação de alimento pode oferecer tanta conveniência quanto o congelamento (POTTER e HOTCHKISS, 1995).

Muitos sistemas de congelamento estão disponíveis, cada um projetado para alcançar o congelamento na maneira mais eficiente, e para manter a máxima qualidade do produto (SINGH e HELDMAN, 1993). Dentre os métodos de congelamento mais utilizados, encontram-se os sistemas por contato direto e o por imersão.

Vários sistemas de congelamento para alimentos operam com contato direto entre o líquido refrigerante e o produto. Na maioria das situações, esses sistemas operam com alta eficiência porque não existem barreiras na transferência de calor entre o refrigerante e o produto. O termo "Congelamento Rápido Individual" (IQF – "Individual Quick Freezing") se aplica a esses

sistemas projetados para alcançar o congelamento rápido (SINGH e HELDMAN, 1993).

Pelo método de imersão, o alimento é colocado dentro de um líquido refrigerante, sendo a superfície do produto reduzida para uma temperatura muito baixa. Para produtos de volumes pequenos, o processo de congelamento é realizado muito rapidamente, em condições semelhantes às de IQF. Os refrigerantes mais usados para esse propósito são nitrogênio, gás carbônico e freon.

Uma das desvantagens importantes dos sistemas de congelamento por imersão é o alto custo dos refrigerantes, pois a eficiência global do sistema de congelamento é uma função da habilidade de recuperar e reutilizar os vapores produzidos nos compartimentos congeladores (SINGH e HELDMAN, 1993).

Durante o congelamento criogênico (em temperaturas iguais ou inferiores a -60°C) as peças do alimento entram em contato com o líquido refrigerante e o congelamento das camadas exteriores ocorre rapidamente, formando uma crosta fina. A crosta de gelo bloqueia a perda de umidade e sabor e impede a aglomeração das peças. Quando os produtos são congelados mais lentamente, como em freezer convencional, a umidade forma uma ponte de gelo entre as peças individuais do alimento e os mesmos se aglomeram, congelando juntos.

Com nitrogênio líquido, os cogumelos são congelados individual e rapidamente, e não há tempo suficiente para formar as pontes de gelo (AGNELLI e MASCHERONI, 2002). Além disso, a formação de cristais de gelo dentro do produto modifica a disponibilidade da água para reações químicas e enzimáticas. Como a temperatura é reduzida e mais água é convertida ao estado sólido, menos água fica disponível para manter as reações de deterioração (SINGH e HELDMAN, 1993).

O processo de congelamento rápido tem sido usado e representa uma forma de aumentar a estabilidade durante o armazenamento, e de facilitar o consumo dos cogumelos fora dos períodos sazonais (MANZI et al., 2004).

Embora o congelamento como processo de preservação geralmente resulte em produto de alta qualidade para consumo, a qualidade é influenciada pelo processo de congelamento e pelas condições de armazenamento. Para alguns produtos, o congelamento rápido é exigido, a fim de assegurar que se

formem cristais de gelo pequenos, dentro da estrutura do produto, provocando dano mínimo para a textura do mesmo. Outros produtos não são influenciados por mudanças estruturais, e não justificam os custos adicionais associados ao congelamento rápido (SINGH e HELDMAN, 1993).

Uma das formas mais atuais de congelamento de cogumelos comestíveis é a utilização de nitrogênio líquido ou de supercongeladores a -40°C . Uma vez alcançado o congelamento dos cogumelos, por qualquer método, eles devem ser conservados a -20°C (CARDONA, 2001).

O armazenamento a -18°C não seria exigido para garantir estritamente a estabilidade microbiológica, já que os microrganismos deterioradores de alimentos não crescem abaixo de $-9,5^{\circ}\text{C}$. Por outro lado, espera-se que o transporte e as instalações de armazenamento de produtos congelados apresentem variações na temperatura. Portanto, a estocagem a -18°C oferece uma medida razoável de segurança contra contaminantes normais de alimentos e uma margem maior na questão de segurança contra patógenos. Alimentos congelados têm batido recordes de excelência em saúde pública ao longo dos anos (POTTER e HOTCHKISS, 1995). Entretanto, para o controle das reações enzimáticas, a estocagem a -18°C não é considerada baixa o suficiente, já que algumas enzimas mantêm atividade até em -73°C , embora as taxas de reação sejam extremamente lentas (POTTER e HOTCHKISS, 1995).

Na maioria dos alimentos, uma quantidade considerável de água permanece sem congelar a $-9,5^{\circ}\text{C}$, e o armazenamento em longo prazo nessa temperatura resulta em deterioração enzimática severa e compromete a qualidade do alimento, especialmente se essas reações forem de natureza oxidativa. Deve-se, então, baixar mais a temperatura, para garantir a redução da velocidade das reações enzimáticas (POTTER e HOTCHKISS, 1995).

O armazenamento a -18°C retarda suficientemente a atividade de muitas enzimas de alimentos, impedindo, significativamente, a deterioração (SINGH e HELDMAN, 1993; POTTER e HOTCHKISS, 1995).

Contudo, a otimização do processo de congelamento depende das características do produto; e consideram que os danos por congelamento podem ser o maior problema em alimentos congelados, e que a extensão dos danos depende da taxa de congelamento, do tipo de alimento, do tempo de

armazenamento e da manutenção da temperatura durante o armazenamento (SINGH e HELDMAN, 1993).

Nesse sentido, MORO e GORMLEY (1999) admitem que alguns alimentos, como morangos e cogumelos, são particularmente propícios a apresentar danos pelo congelamento, em razão da estrutura delicada, podendo resultar em colapso na textura e uma grande perda de água.

Estudou-se o efeito do congelamento de cogumelos champignon que passaram por pré-tratamentos como: adição de goma xantana, empanados e fritos, e a utilização de branqueamento a vapor, ambos submetidos ao congelamento criogênico com gás freon, conseguindo resultados mais expressivos com os cogumelos empanados e fritos antes do congelamento, em termos de boa qualidade geral do produto (GORMLEY, 1986).

MORO e GORMLEY (1999) compararam três tipos de congelamento de cogumelos champignon: convencional (lento), congelamento em túnel de ar a -35°C (rápido) e imersão em nitrogênio líquido (ultra-rápido), concluindo que apenas o congelamento criogênico foi satisfatório para a manutenção da qualidade dos cogumelos. GORMLEY e O'RIORDAIN (1976) pesquisaram o efeito do congelamento lento *versus* congelamento rápido, para cogumelos *Pleurotus ostreatus*, branqueados ou não, com lavagem e sem lavagem, analisando a perda de água, a cor, textura, aparência e *flavor*. Os resultados indicaram que cogumelos branqueados antes do congelamento perderam *flavor* logo após o branqueamento, e os congelados sem branquear desenvolveram um forte odor após três meses de congelamento a -30°C.

AGNELLI e MASCHERONI (2002) compararam o congelamento lento com o congelamento criomecânico, combinação de imersão em nitrogênio líquido com túnel de ar. Avaliaram a evolução da perda de água, textura e da cor, e a imersão dos cogumelos em nitrogênio líquido tornou os cogumelos muito quebradiços, em razão da alta quantidade de água do produto, exigindo mais pesquisas na área. A adição de filmes comestíveis também foi testada, visando preservar e aumentar a vida de prateleira de cogumelos. Melhores resultados foram obtidos quanto à aparência e à perda de água quando a adição de filmes foi combinada com preservação a baixas temperaturas (NUSSINOVITCH e KAMPF, 1993).

ODDSON e JELEN (1981) estudaram o congelamento, o enlatamento e a desidratação como métodos de conservação, analisando o escurecimento enzimático, devido a PPO, a cor e perda de água, além de qualidades sensoriais, como o *flavor*. Observou-se que o enlatamento e a desidratação tem um melhor potencial para indústria, em razão do congelamento necessitar de processos adicionais que retardem o *off-flavor* produzido pelos cogumelos não branqueados.

A utilização de metabissulfito e do branqueamento antes do congelamento, e o armazenamento em embalagem a vácuo foram estudados, analisando-se PPO, a textura, a cor, a perda de água e a aparência (FUSTER et al., 1984). Os resultados obtidos indicam que a embalagem a vácuo foi primordial para garantir a aparência satisfatória do produto.

Mais estudos devem ser realizados com intuito de viabilizar o congelamento do shiitake, garantindo o consumo em condições satisfatórias por períodos mais longos.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido na Unidade de Processamento Mínimo do Departamento de Biologia Vegetal/DBV, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Microbiologia/DMB, no Laboratório de Micorrizas e no Laboratório de Fisiologia de Microorganismos do BIOAGRO, no Laboratório de Pigmentos e Secagem, Laboratório de Análise de Alimentos e Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Tecnologia de Alimentos/DTA, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG.

3.1. Matéria-prima

O cogumelo shiitake (*L. edodes*) foi obtido de cultivos comerciais em troncos de eucalipto de produtores da região de Viçosa. Os cogumelos foram colhidos, refrigerados com gelo e encaminhados em caixas de isopor para a Unidade de Processamento Mínimo onde foram processados e embalados, no mesmo dia.

3.2. Processamento

As etapas do processamento basearam-se em seleção, lavagem em água corrente, sanitização, branqueamento e, ou adição de antioxidantes,

centrifugação, acondicionamento, congelamento e armazenamento, conforme fluxograma mostrado na Figura 1.

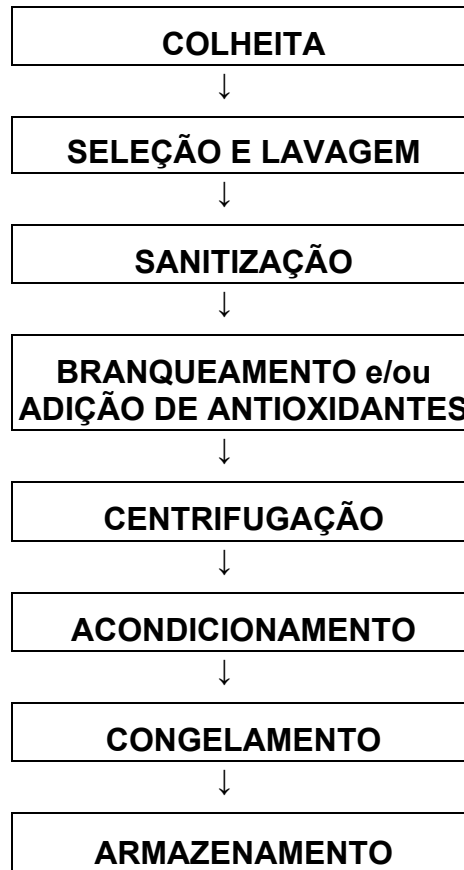


Figura 1 – Fluxograma para processamento do cogumelo shiitake.

3.2.1. Seleção e lavagem

Os cogumelos foram selecionados, segundo a abertura e o tamanho do chapéu, de 4 a 6 cm de diâmetro, evitando-se aqueles com os chapéus abertos e muito grandes, e por aparência, escolhendo-se os cogumelos mais saudios e mais uniformes, tanto na cor quanto na forma. Foram então lavados em água corrente, para remoção de sujidades e partículas aderidas da superfície.

3.2.2. Sanitização

A sanitização foi realizada por imersão durante 10 min, em banho de água com cloro ativo na concentração de 200 mg.L⁻¹, a 4°C, utilizando, para isso, o sanitizante comercial clorado orgânico (Sumaveg[®] Diversey Lever), de acordo com SANTANA (2003).

3.2.3. Branqueamento e tratamento com antioxidantes

Foram realizados testes, com amostras em duplicatas, para avaliar o branqueamento e o tratamento com os ácidos cítrico e ascórbico como antioxidantes, para prevenir o escurecimento enzimático do shiitake.

Para avaliar a viabilidade do branqueamento, após os processos de lavagem e sanitização, utilizou-se o tratamento em água, à temperatura de, aproximadamente, 85°C, durante 30, 60, 90 ou 120 segundos (Tabela 1).

Para a determinação das concentrações dos antioxidantes, após os processos de lavagem e sanitização, os cogumelos foram imersos por dois minutos em soluções preparadas com combinações de ácido cítrico e ácido ascórbico, em água a 4°C, nas concentrações 0 (zero), 0,5 e 1,0% de cada ácido (Tabela 1).

Os cogumelos sanitizados, branqueados e ou tratados com as soluções antioxidantes foram centrifugados, embalados em bandeja de isopor e revestidos com uma camada de filme de polivinilcloreto (PVC) e armazenados durante 10 dias a 7°C. Após esse período, as amostras foram analisadas quanto a cor.

Amostras em duplicatas de cada um dos tratamentos do teste preliminar foram pesadas e congeladas em freezer comercial por 10 dias, com intenção de se determinar a perda de água após o descongelamento.

Todos os procedimentos foram realizados com duas repetições e em duplicata. No total, foram usadas nove combinações de antioxidantes e ou quatro tempos de branqueamento. Com os resultados das análises de cor e perda de água, os dados foram submetidos a "ANOVA" e as médias comparadas pelo "teste de Tukey", a 5% de significância.

Tabela 1 – Testes para escolha das concentrações de antioxidantes e viabilidade do branqueamento

TRATAMENTO	ÁCIDO CITRICO	ÁCIDO ASCÓRBICO	BRANQUEAMENTO (segundos)
1	-	-	-
2	-	0,5%	-
3	-	1%	-
4	0,5%	-	-
5	0,5%	0,5%	-
6	0,5%	1%	-
7	1%	-	-
8	1%	0,5%	-
9	1%	1%	-
10	-	-	30 s
11	-	-	60 s
12	-	-	90 s
13	-	-	120 s

Baseando-se nos resultados desses testes, o experimento foi dividido em quatro grupos de acordo com os tratamentos químicos utilizados no delineamento experimental, como descrito no item 3.3.

3.2.4. Centrifugação

Depois do tratamento com antioxidantes, os cogumelos foram centrifugados por dois minutos, utilizando-se uma centrífuga doméstica de pequeno porte (ARNO), para retirar o excesso de água absorvida durante os processos anteriores (SANTANA, 2003).

3.2.5. Acondicionamento, congelamento e armazenamento

Os cogumelos foram acondicionados em sacos plásticos Masterpack da Reyco, de polivinilcloro (PVC), com fecho hermético, para facilitar o manuseio e possibilitar a retirada das amostras a serem analisadas mensalmente.

Para o congelamento foram usados dois processos:

- no **processo rápido**, os cogumelos antes de embalados foram congelados por contato direto com N₂ líquido em equipamento da Air Products LTDA, modelo CRYO AP700, com programação para atingir - 45°C, mantidos por 20 min (Individual Quick freezing - IQF).

- no **processo lento**, os cogumelos já embalados foram congelados em freezer comercial, a -18°C.

As amostras congeladas foram armazenados a -18°C em congelador doméstico ("freezer") . A temperatura de armazenamento foi monitorada a cada três dias.

Amostras foram retiradas para se proceder às análises físico-químicas no tempo zero e a cada 30 dias, durante o período de 120 dias. Amostras para análises microbiológicas foram coletadas no tempo zero e 90 dias após o congelamento.

3.3. Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido segundo o delineamento em tratamentos e parcelas, subdivididas em:

- Parcelas, tendo quatro tratamentos: Clorado, Antioxidantes (0,5% de cada), Clorado + Antioxidantes, Controle; e dois tipos de congelamento: congelamento, Rápido (R) e Lento (L).

- Subparcelas: tempo de armazenamento: 0, 30, 60, 90 e 120 dias.

Amostras armazenadas sob congelamento a -18°C foram avaliadas nos atributos descritos nos itens **3.4.1.** a **3.4.7.** Os ensaios foram conduzidos em três repetições. O esquema experimental está representado na Tabela 2.

Tabela 2 – Esquema representativo do experimento

Tratamento	Congelamento	Tempo de estocagem (Dias)
Clorado (I)	Rápido	0, 30, 60, 90, 120
	Lento	0, 30, 60, 90, 120
Antioxidantes (II)	Rápido	0, 30, 60, 90, 120
	Lento	0, 30, 60, 90, 120
Clorado + Antioxidantes (III)	Rápido	0, 30, 60, 90, 120
	Lento	0, 30, 60, 90, 120
Controle (IV)	Rápido	0, 30, 60, 90, 120
	Lento	0, 30, 60, 90, 120

3.4. Análises microbiológicas e físico-químicas

3.4.1. Análise microbiológica

A contagem padrão de aeróbios mesófilos foi feita em ágar para contagem padrão (PCA), segundo metodologia descrita por VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, (2002) no manual da APHA.

Porções de 25 g do material, pesadas assepticamente, foram homogeneizados em Stomacher[®] (Seward, UK) com 225 mL de água peptonada a 0,1%. Com as amostras homogeneizadas, foram realizadas diluições seriadas e 0,1 mL das diluições foram plaqueadas em duplicata, por meio de técnica de espalhamento em superfície. As placas foram incubadas a 35°C, por 24 e 48 h, e, após a contagem, em contador em placas, o resultado foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de cogumelo.

3.4.2. pH

O pH do cogumelo foi determinado por potenciometria em 10 g da amostra homogeneizada com 90 mL de água destilada, utilizando-se um pHmetro (DM 20 Digimed), segundo método 13.010, AOAC (1984).

3.4.3. Perda de Água

A perda de água foi determinada por adaptações dos métodos feitos por ODDSON e JELEN (1981), e AGNELLI e MASCHERONI (2002), a partir do método oficial da AOAC (1995). Os cogumelos congelados foram pesados, colocados em funis por três horas, à temperatura ambiente ($\pm 23^{\circ}\text{C}$), sendo, então, pesados novamente.

3.4.4. Cor

A cor foi determinada em um colorímetro ColorQuest II Sphere (HunterLab, Reston, VA), com o auxílio do “software” Universal. Foi feita a leitura direta de reflectância, empregando-se a escala CIELAB $L^*a^*b^*$, em que L^* mede a luminosidade (branco/preto), a^* mede a intensidade de cor que varia de vermelho a verde e b^* a intensidade de cor que varia de amarelo a azul.

Para medir a cor, o cogumelo foi colocado entre duas placas de vidro de borossilicato, com aproximadamente 3,0 mm de espessura. Os valores para L^* , a^* e b^* foram obtidos a partir da média de seis leituras consecutivas em pontos diferentes de cada cogumelo, segundo metodologia descrita por BRENNAN et al. (1999).

3.4.5. Atividade de polifenol oxidase (PPO)

A atividade de polifenol oxidase (PPO) foi determinada de acordo com GOMES e LEDWARD (1996), e CARNELOSSI (2000). O extrato do cogumelo shiitake foi obtido pela homogeneização de 10 g de cogumelos com 20 mL de solução tampão fosfato 0,1 M; pH 6,8. O extrato foi centrifugado a 2.224 g, a 5°C , por 10 min. O sobrenadante foi utilizado como extrato enzimático.

O meio de reação foi composto de 1,0 mL de catecol 0,4 M em tampão fosfato 0,1 M, pH 6,8; colocados em cubeta de 3 cm³. Para dar início à reação, foram adicionados à cubeta 0,3 mL de extrato do cogumelo e 1,0 mL do meio de reação, agitado três vezes. Imediatamente após a mistura, foi lida a absorbância a 425 nm, a 30°C , a cada 30 segundos por 3 min, em

espectrofotômetro de feixe duplo (Mod. DU 640 Beckman), previamente calibrado com solução tampão fosfato 0,1 M.

Uma unidade de PPO foi definida como a quantidade de enzima no extrato capaz de aumentar a absorbância em 0,001 unidades por minuto. A atividade foi expressa em unidades de PPO/(min.g matéria fresca (MF)).

3.4.6. Textura

A alteração da textura dos cogumelos foi determinada com o texturômetro Texture Analyser, UK manipulado através do controle Stable Micro Systems, utilizando o programa Texture Expert. Os cogumelos analisados tinham, aproximadamente, o mesmo diâmetro e altura, para garantir melhor uniformidade e maior precisão nos resultados.

A firmeza ou rigidez dos cogumelos foi determinada por teste de compressão, no qual o cogumelo foi posicionado sobre uma superfície lisa, e pressionado por uma ponta de prova lisa, de 5 cm de diâmetro, ligado a uma célula de força de 50 N, num ciclo de compressão e relaxamento, segundo NARVAIZ (1994).

Na adaptação do teste para o cogumelo shiitake, a ponta desce sobre o cogumelo a uma velocidade de 3,0 mm/s até 50% de compressão, sobe e permanece parada por 20 segundos, caracterizando o período de relaxamento, e volta a descer e comprimir o cogumelo, novamente, até 50% de compressão. Foi medida a força máxima obtida durante o ciclo de compressão e relaxamento.

3.4.7. Vitamina D₂

Escolheu-se determinar o teor de vitamina D como parâmetro da degradação do cogumelo shiitake por serem os cogumelos a única fonte alimentar não-animal que produz vitamina D. Uma das análises indicadas para avaliar a deterioração de alimentos seria a degradação da vitamina C, porém, no experimento proposto não seria possível fazer tal determinação, pois dois dos tratamentos utilizam vitamina C como um dos antioxidantes, o que poderia mascarar os resultados reais.

As análises do teor de vitamina D foram realizadas segundo metodologias adaptadas dos trabalhos de TAKAMURA et al. (1991) e de TORRE et al. (2001). As amostras do cogumelo foram desidratadas em estufa a 55°C, por 48 h, trituradas após congeladas com nitrogênio líquido, pesadas, homogeneizadas em acetona e centrifugadas a 2000 g. O sobrenadante foi separado e evaporado para concentração. O concentrado foi diluído, novamente, em acetona, filtrado, medido o volume final, e analisado.

As análises foram realizadas em um aparelho HPLC Shimadzu, modelo LC-10Ai, com uma coluna de fase reversa com C-18 Shimadzu (4,0 mm de diâmetro, 25 cm de comprimento). Para a eluição das amostras, foi usada uma mistura de solventes com a seguinte programação: o gradiente foi alterado para 85% de Fase B (30:70:0,1 metanol / acetonitrila / ácido acético glacial) e 15% de Fase A (água milliQ), passando a 100% em 10 minutos e permanecendo assim até 25 minutos, voltando a 85%, aos 27 min, fechando o ciclo aos 28 minutos. O fluxo da fase móvel foi de 1 mL/min, a injeção de amostra de 20 µL, e medido com detector UV Shimadzu a 272 nm.

3.5. Análise estatística dos resultados

Os dados obtidos nas análises físico-químicas e microbiológicas foram submetidos à análise de variância e regressão, utilizando-se o programa estatístico SAEG, versão 8.0 (Sistema para Análises Estatísticas, UFV, 2004) (APÊNDICE), e pelo teste de Tukey a 5%.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Viabilidade do branqueamento e concentração de antioxidantes

Verificou-se que as amostras de shiitake submetidas à etapa de branqueamento apresentaram alto percentual de perda de água após o descongelamento, o que resultou no amolecimento e na perda de aparência e textura dos cogumelos (Figura 2 e 3). Estes resultados indicam que é inviável a utilização da etapa de branqueamento no processamento do cogumelo shiitake. Resultados semelhantes foram observados por ODDSON e JELEN (1981), que notaram que a qualidade dos cogumelos *Pleurotus florida* branqueados antes do congelamento foi inferior à qualidade de cogumelos congelados sem branquear, pois cogumelos branqueados perderam muito mais água, evidenciando o amolecimento.

GORMLEY e O'RIORDAIN (1976) também constataram que o branqueamento resultou em perda de qualidade, pois alterou o *flavor* do cogumelo *Pleurotus ostreatus*. Entretanto, esses autores verificaram que os cogumelos não-branqueados desenvolveram um odor forte e ruim após três meses de armazenamento a -30°C. Amostras dos cogumelos que foram lavadas e, ou branqueadas tornaram-se difíceis de manipular; e aderiram-se ao

congelamento pelo método convencional, mesmo quando centrifugados após o processo de lavagem.

Os cogumelos que mantiveram as melhores colorações após o armazenamento refrigerado e a menor perda de água após o descongelamento foram os tratados com 0.5% de ácido cítrico e 0.5% de ácido ascórbico e os tratados com 1% de ácido cítrico e 1% de ácido ascórbico (Figuras 2 e 3). O efeito benéfico do uso de ácido cítrico e ascórbico no retardamento do escurecimento em champignons congelados também foi evidenciado por DESROSIER e TRESSLER, (1977); BRENNAN e GORMLEY (2000). Observou-se também o efeito sinérgico dos dois ácidos, em razão dos melhores resultados para a combinação do que para a utilização de cada um deles separados, mesmo em concentração de 1%.

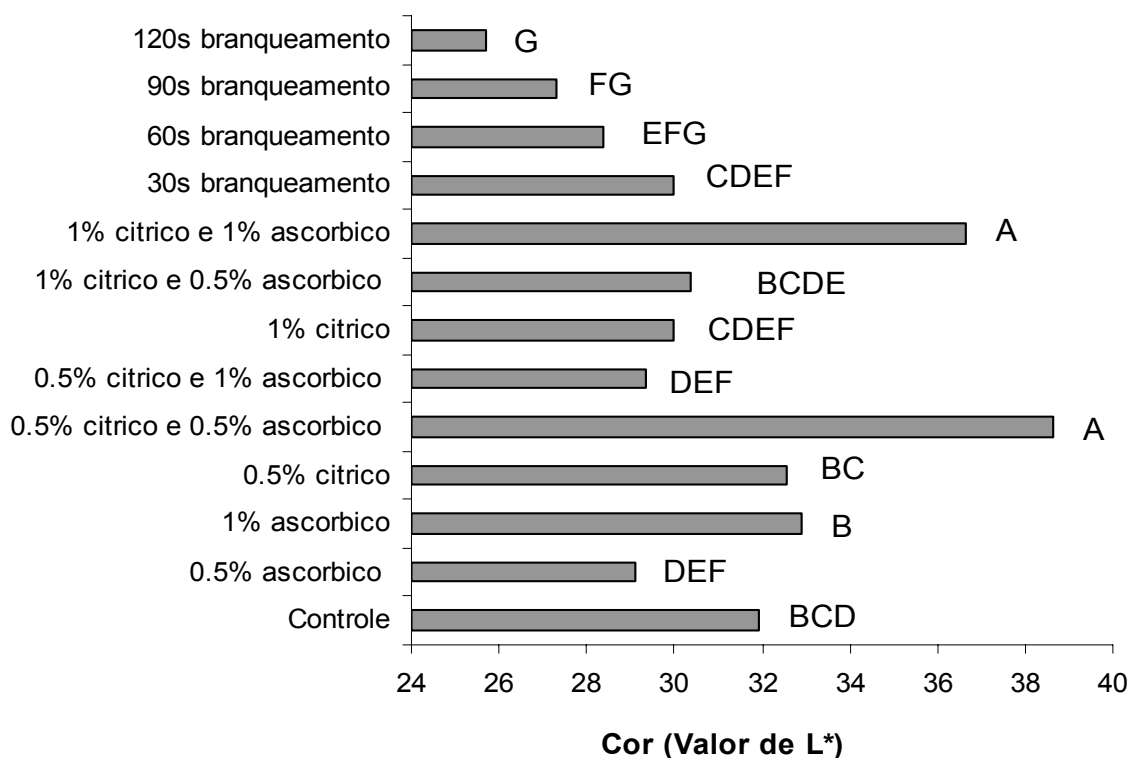


Figura 2 – Valor de L* para cor em cogumelos submetidos a diversos tratamentos, após armazenamento por 10 dias, a 7°C. Médias seguidas por pelo menos uma letra igual não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey..

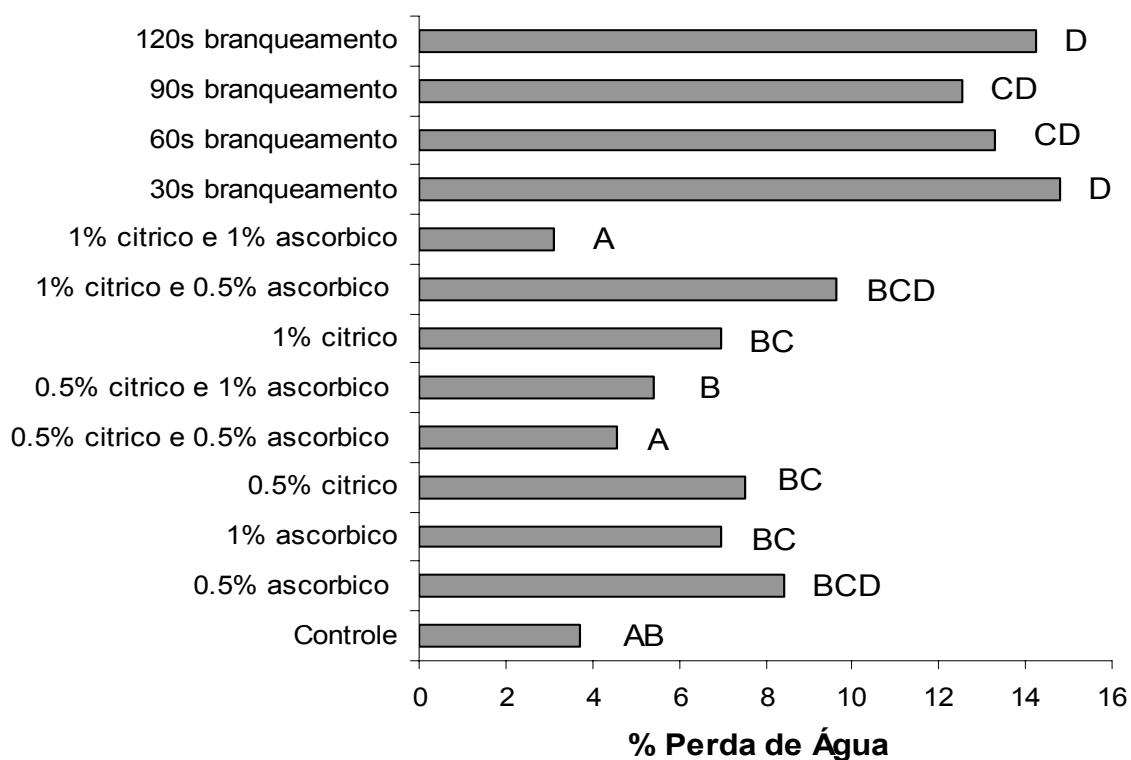


Figura 3 - Porcentagem de perda de água, em cogumelos submetidos a diversos tratamentos, após armazenamento por 10 dias, a -18°C . Médias seguidas por pelo menos uma letra igual não diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

4.2. Variação da temperatura durante o tempo de armazenamento

A temperatura de armazenamento dos cogumelos não variou durante o tempo de armazenamento do cogumelo shiitake. Já no primeiro dia de armazenamento, a temperatura chegou a -15°C , e a partir do segundo dia manteve-se sempre abaixo de -17°C . Temperaturas inferiores a -20°C não foram observadas durante o período de armazenamento.

4.3. Efeito dos tratamentos sobre o cogumelo shiitake congelado

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para as análises de cor, perda de água, vitamina D e atividade de PPOs (vide anexo). Os cogumelos shiitake tratados com o composto clorado apresentaram pH próximo aos do controle (não-sanitizados) (Figura 4), mostrando que o sanitizante não alterou o pH do produto. Os tratamentos com ácidos orgânicos, utilizados como antioxidantes, reduziram significativamente os valores do pH dos cogumelos (Figura 4), o que pode acarretar em mudanças perceptíveis do sabor do cogumelo.

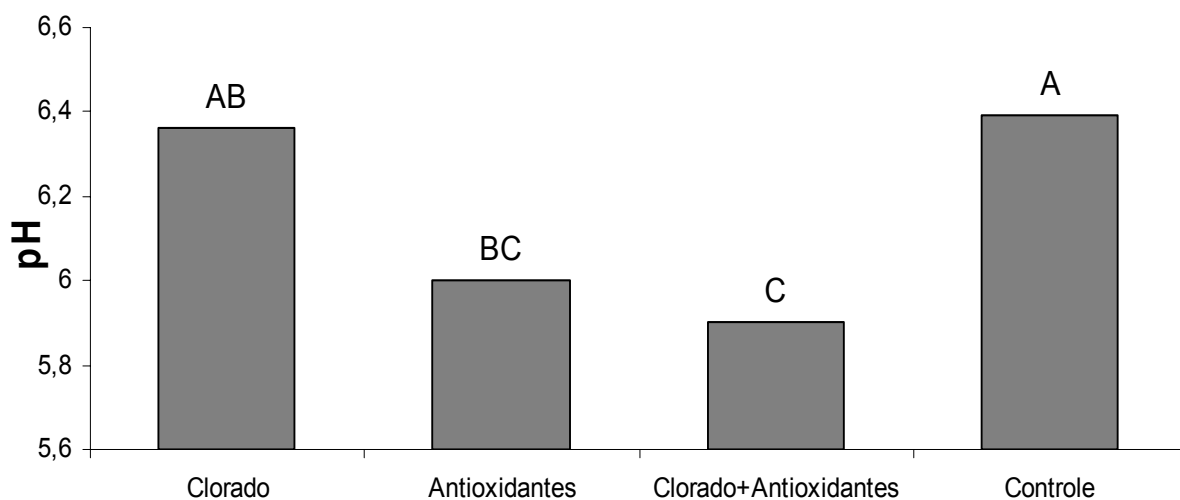
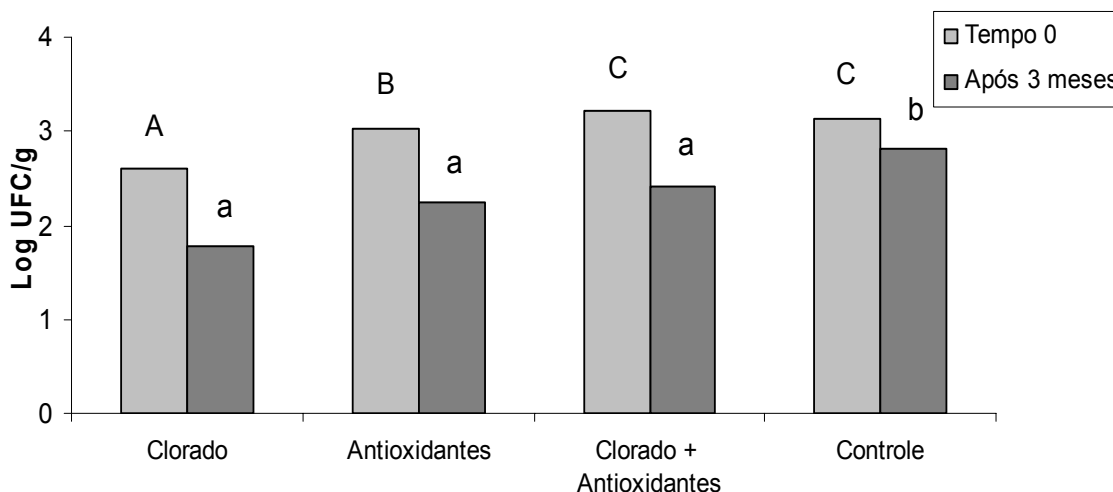


Figura 4 – Valor médio de pH do cogumelo shiitake, durante todo o período de armazenamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

4.4. Efeito da sanitização e do tempo de armazenamento sobre a microbiota contaminante

O tratamento com o composto clorado foi o mais efetivo na diminuição da população de aeróbios mesófilos (Figura 5) no tempo zero. Entretanto, após três meses de armazenamento, os tratamentos Clorado, Antioxidantes e Clorado + Antioxidantes não apresentaram diferenças significativas, sendo os três superiores ao tratamento controle.

A redução da população microbiana durante o período de armazenamento, não foi significativa entre os três tratamentos, observando-se uma redução de 0,8 ciclo logarítmico na contagem de aeróbios mesófilos (Figura 5), mas superiores estatisticamente ao controle, que reduziu apenas 0,3 ciclo logarítmico, mostrando a eficiência dos tratamentos como sanitizantes. O propósito dos pré-tratamentos é inativar os microrganismos e tornar as enzimas inativas (ZANG et al., 2003).



(■) Análise no Tempo zero;

(■) Análise após três meses de armazenamento congelado a - 18 °C.

Figura 5 – Médias do Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias de bactérias aeróbias mesófilas (g) em amostras de cogumelos shiitake, submetidos a diferentes tratamentos de sanitização.

4.5. Efeito do tempo de armazenamento sobre o cogumelo shiitake

Houve um abaixamento do pH do cogumelo shiitake durante praticamente todo o período de armazenamento sob congelamento, variando significativamente com o tempo (Figura 6). VILLAESCUSA e GIL (2003) observaram que o pH dos cogumelos também decresceu durante o tempo de armazenamento.

A perda de água pelos cogumelos ao serem descongelados foi maior nos primeiros meses de armazenamento, conforme demonstrado na Figura 6. Os cogumelos possuem mais de 90% de água e sua estrutura porosa permite

que a água escape prontamente depois do descongelamento (RAJARATHNAM et al., 2003).

$$\text{pH} = 3\text{E-}05\text{T}^2 - 0,0026\text{T} + 6,1747 \quad R^2 = 0,6908$$
$$\text{Perda de Água} = -0,0268\text{T} + 15,872 \quad R^2 = 0,7585$$

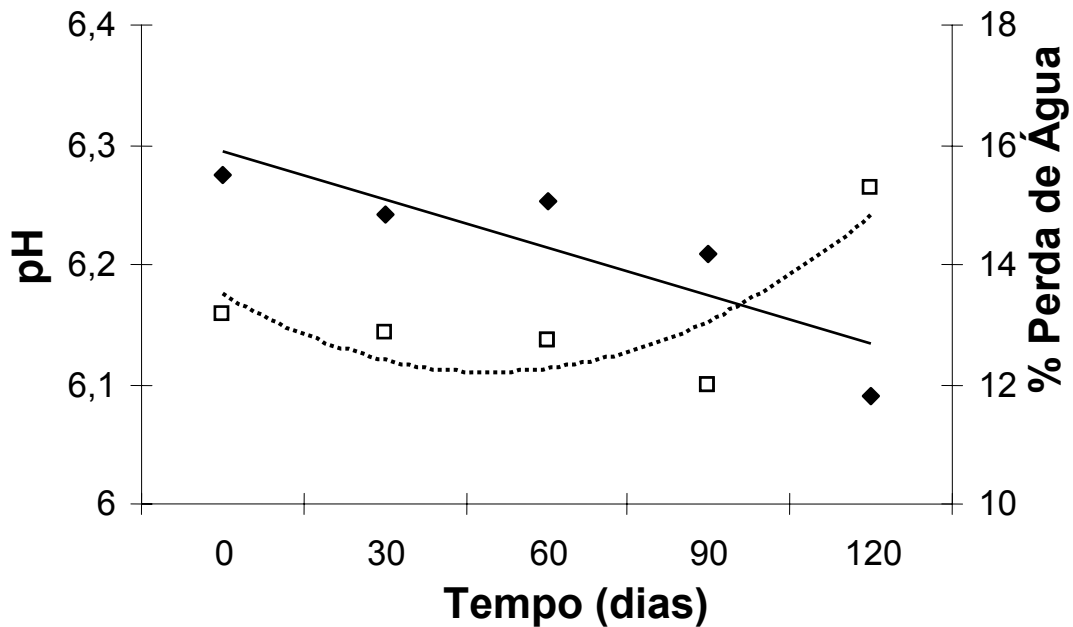


Figura 6 - Efeito do tempo de armazenamento de cogumelos shiitake congelados e mantidos a -18°C , sobre a variação do pH (□) e porcentagem de perda de água (◆) em cogumelos shiitake.

Não foi detectada diferença de perda de água entre os cogumelos tratados com antioxidantes e os não-tratados. Resultados semelhantes foram observados para o cogumelo champignon estudado por FUSTER et al. (1984).

O valor da atividade das PPOs aumentou com o tempo de armazenamento, indicando a relação entre a atividade PPOs e o escurecimento dos cogumelos como se pode verificar pela redução do valor de L^* (Figura 7). FUSTER et al. (1984) notaram que, após o descongelamento, os cogumelos champignon apresentam uma forte tendência ao escurecimento.

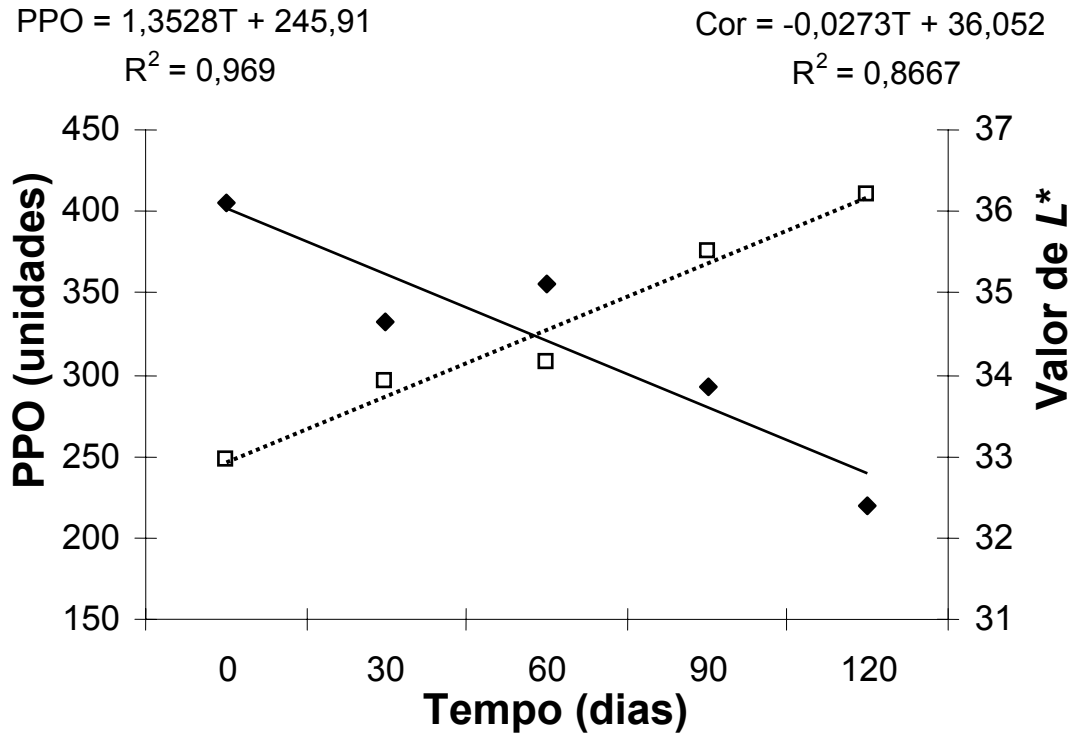


Figura 7 - Efeito do tempo de armazenamento de cogumelos shiitake congelados e mantidos a -18°C, sobre a atividade de PPOs (□) e variação do valor L*(♦) em cogumelos shiitake.

O escurecimento intenso dos cogumelos, ao longo do armazenamento sob congelamento, não pode ser evitado nem com a adição de antioxidantes. Amostras dos tratamentos controle, Sumaveg[®], Sumaveg[®]+Ácidos e Ácidos apresentaram a mesma intensidade de escurecimento, não havendo diferença entre as amostras com diferentes tipos de tratamento ou de congelamento.

Notou-se o desenvolvimento de um forte odor característico a partir do segundo mês para os cogumelos congelados pelo método lento e do terceiro mês de armazenamento para os cogumelos congelados pelo método rápido, principalmente à medida que o cogumelo é descongelado.

BRENNAN et al. (1999) notaram que a resposta dos cogumelos aos tratamentos sugere que os benefícios foram principalmente pela ação da atividade antibacteriana e, também, pela inibição do escurecimento enzimático. A Figura 8 mostra a evolução da aparência dos cogumelos, ao longo do armazenamento, para o tratamento Controle.

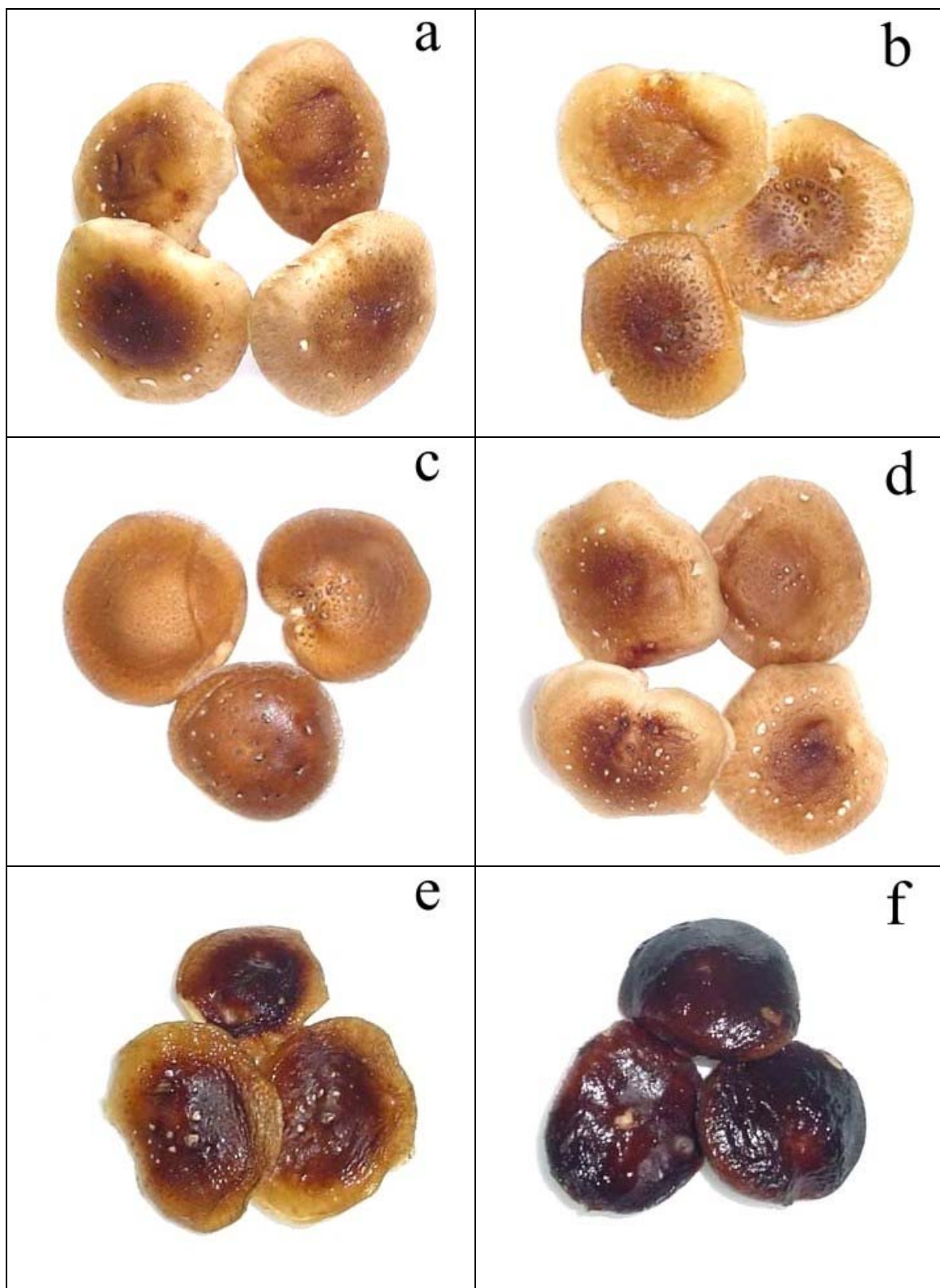


Figura 8 – Aparência dos cogumelos durante o tempo de armazenamento, para o tratamento controle, após o descongelamento, para:

(a) cogumelos shiitake frescos.
(c) 30 dias de armazenamento.
(e) 90 dias.

(b) cogumelos após o processamento.
(d) 60 dias.
(f) 120 dias.

Os resultados dos estudos de RAJARATHNAM (2003) apontaram mudanças bioquímicas em cogumelos associadas com o escurecimento, observando que o escurecimento aumentava à medida que aumentava a temperatura, em razão do aumento da atividade das PPOs. Entretanto, mesmo sob congelamento e sem variações significativas da temperatura, pode-se observar um forte escurecimento dos cogumelos shiitake após o segundo mês de armazenamento, tornando-se impróprios ao consumo.

Estudos de SUSLOW e CANTWELL (1998) também demonstraram que champignons, quando congelados e mantidos a -18°C , duram aproximadamente quatro meses, quando começam, então, a desenvolver um forte odor característico, e uma coloração muito escura, o que também foi notado por ODDSON e JELEN (1981), e por AGNELLI e MASCHERONI (2002), a partir de três meses de armazenamento a -30°C , além da formação de aroma e sabor fortes durante o consumo.

4.6. Efeito do método de congelamento sobre o cogumelo shiitake

4.6.1. Perda de Água

Neste estudo, houve uma média de 12,4% de perda de água nas amostras congeladas pelo processo rápido, enquanto nas amostras congeladas pelo processo lento a média da perda de água ficou em 16,2%. Essas médias foram consideradas diferentes entre si, pelo teste de F, a 1% de significância (Figura 9).

GORMLEY e O'RIORDAIN (1976) notaram que cogumelos não-branqueados congelados pelo método lento perderam aproximadamente 25% de água, enquanto os cogumelos não-branqueados congelados pelo método rápido perderam 16% de água. A perda de água tem efeito significativo sobre a qualidade dos cogumelos, particularmente sobre a textura.

Entretanto, essas perdas foram menores que aquela observada por MORO e GORMLEY (1999), em cujo experimento os cogumelos champignons congelados pelo método lento perderam, aproximadamente, 22% de água,

enquanto os cogumelos champignons congelados em nitrogênio líquido tiveram 17% de perda de água.

Estudos justificam, ainda, que os cogumelos são tradicionalmente difíceis de congelar, em razão do seu valor de umidade ser elevado e sua estrutura física delicada (MCDONALD e SUN, 2002).

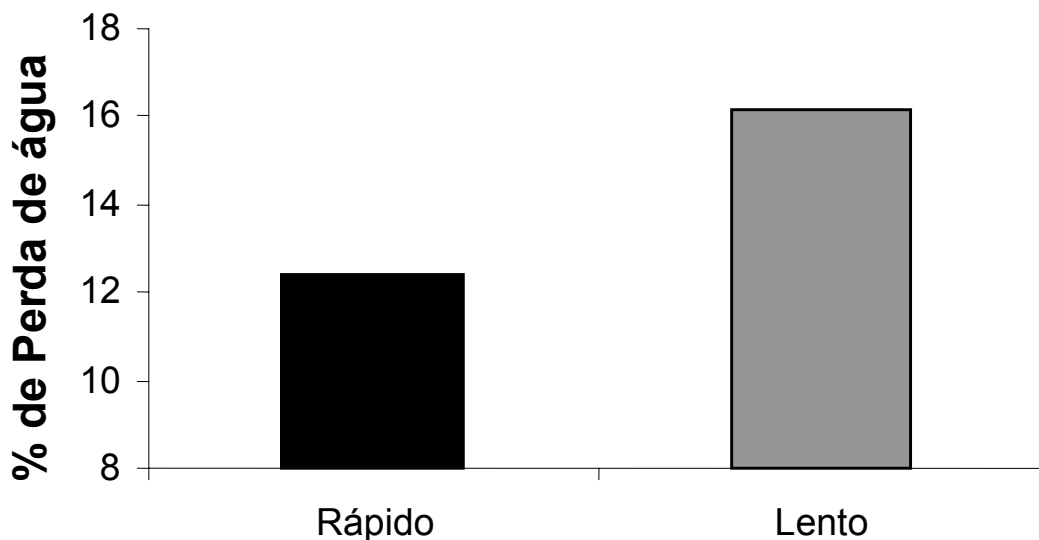


Figura 9 – Efeito do método de congelamento sobre a perda de água nos cogumelos shiitake. Médias diferem significativamente pelo teste F, a 5% de probabilidade.

4.6.2. Vitamina D

O teor de vitamina D nos cogumelos variou com o processo de congelamento utilizado. As amostras congeladas pelo processo rápido apresentaram, em média, teores de vitamina D, representados por μg vitamina D por grama de matéria seca, superior aos valores observados nas amostras congeladas pelo método lento (Figura 10). Os valores médios encontrados para o teor de vitamina são semelhantes aos encontrados por TAKAMURA et al. (1991) e pelo USDA (2002).

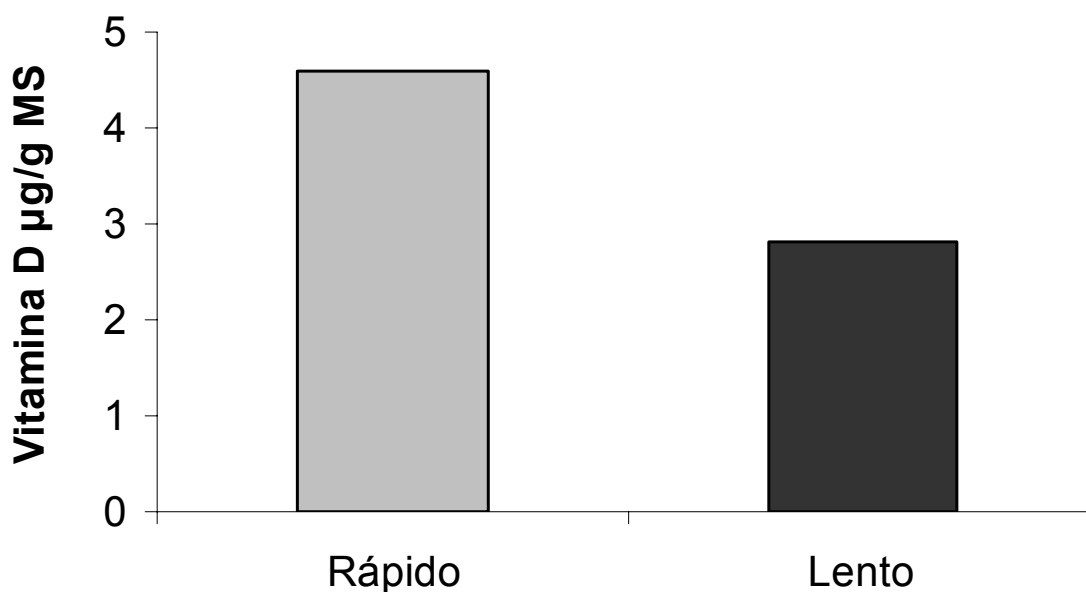


Figura 10 – Efeito do método de congelamento sobre o teor de vitamina D, em µg/g de matéria seca, para cogumelos Shiitake. Médias diferem significativamente pelo teste F, a 5% de probabilidade.

4.6.3. Textura

O congelamento rápido do shiitake, com nitrogênio líquido, foi significativamente superior ao congelamento lento para a preservação da textura, principalmente, nos dois primeiros meses de armazenamento (Tabela 3 e Figura 11a).

Tabela 3 – Valores de textura, nos dois tipos de congelamento, a cada mês de armazenamento

Tempo	Congelamento Rápido	Congelamento Lento
	TEXTURA (Newtons)	
Shiitake Fresco	14,37	14,37
0	12,66 A	7,78 B
30	10,60 A	6,71 B
60	8,10 A	5,74 A
90	6,54 A	4,57 A
120	4,22 A	3,28 A

Valores na mesma linha seguidos de letras iguais não diferem significativamente pelo teste F, a 5% de significância.

Depois do segundo mês de estocagem a -18°C , as diferenças entre os valores médios da textura não foram significativos entre os dois processos de congelamento utilizados. Também, pode ser observado o efeito benéfico do pré-tratamento com o composto clorado na textura, principalmente no início do armazenamento (Figura 11 b).

O tempo estabelecido por NARVAIZ (1994), onde o período de armazenamento foi considerado excessivo, foi baseado em sinais óbvios da deterioração da qualidade do cogumelo tais como escurecimento, amolecimento, viscosidade e odor desagradável. Observou, também, que cogumelos *Agaricus campestris* congelados no nitrogênio líquido apresentaram menor alteração na textura que os congelados pelo método lento, especialmente se tratados com solução de cloro, que induziu, significativamente, a resistência ao amolecimento.

Alguns estudos constituem importantes parâmetros de observação aos resultados desta pesquisa, uma vez que SUSLOW e CANTWELL (1998) afirmam que a estrutura das células é danificada após o congelamento em freezer lento, de forma que, ao serem descongelados, aparecem com os chapéus encharcados e extremamente moles. Já MORO e GORMLEY (1999) indicaram que o congelamento rápido produziu menores danos que o congelamento lento, mas notaram que, durante o armazenamento, os cogumelos tornaram-se mais escuros, amolecidos e sem resistência.

Neste estudo, observou-se que, depois de descongelados, os cogumelos apresentam tendência a um forte escurecimento e perda de textura. Possivelmente, o escurecimento foi causado por enzimas que catalisam a oxidação de substâncias fenólicas.

FUSTER et al. (1984) também confirmaram que cogumelos tiveram um escurecimento forte e produziram uma aparência ruim em seu experimento, e que também a perda de água foi alta, variando de 47 a 56%.

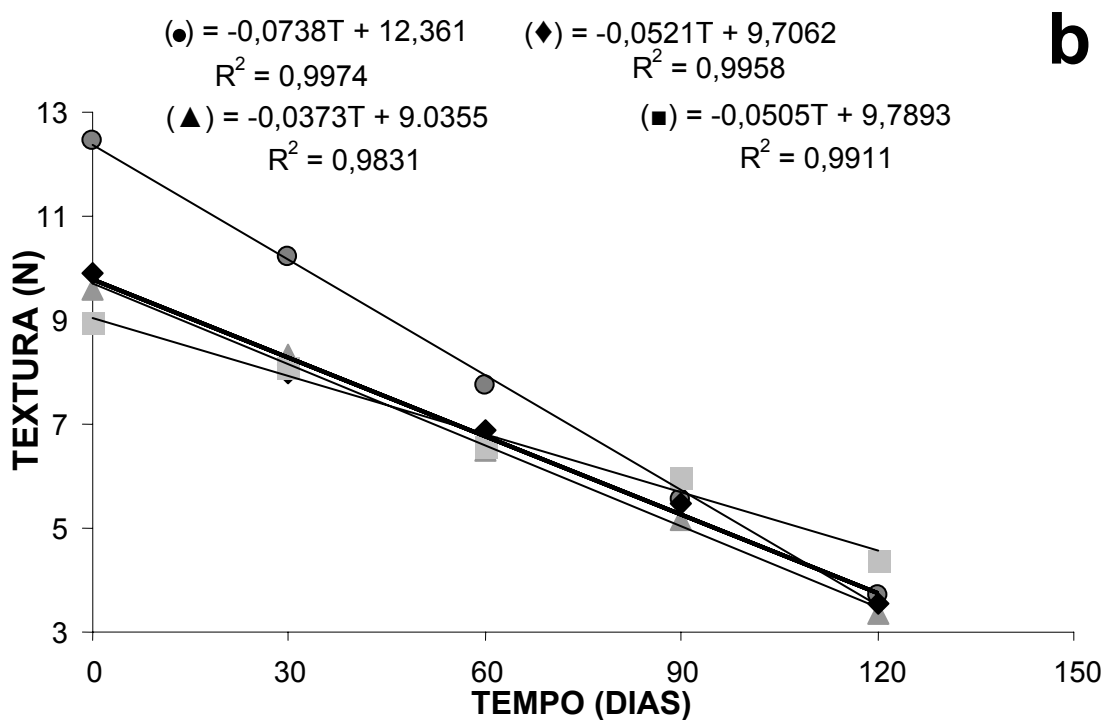
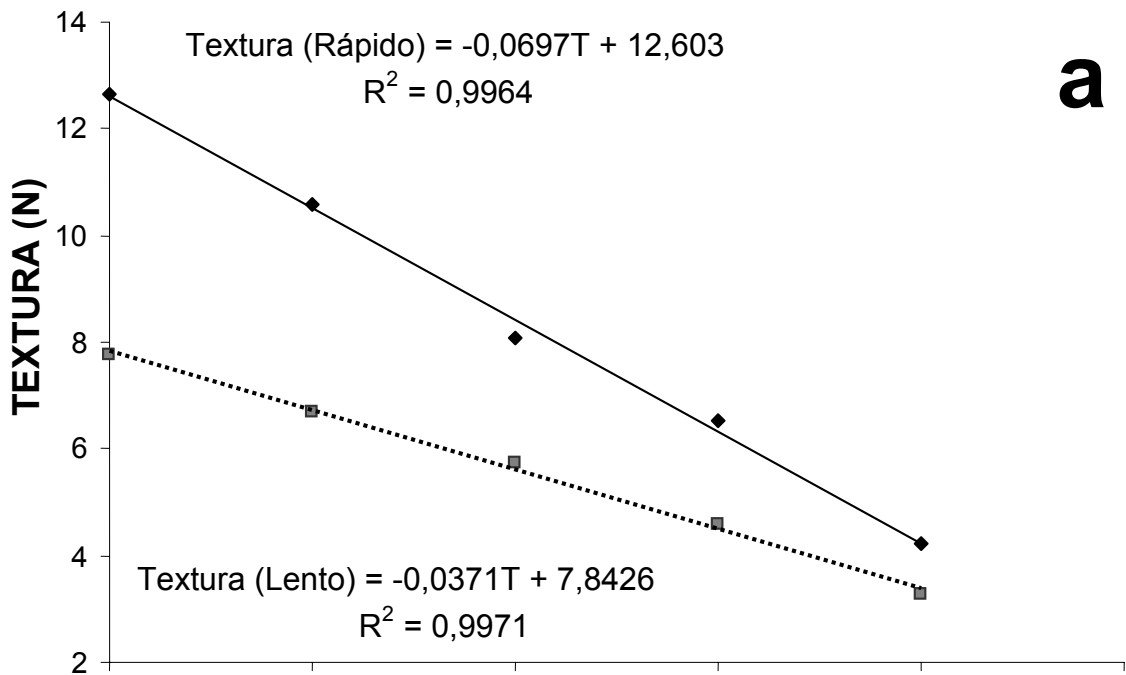


Figura 11 – Alteração da textura dos cogumelos ao longo do tempo de armazenamento, por dois métodos de congelamento (a) e pelos pré-tratamentos (b).

(a) Por tipo Congelamento -

(◆) congelamento com nitrogênio líquido, (■) congelamento lento;

(b) por Tratamento

(●) Sumaveg® ; (◆) Sumaveg®+ ácidos; (▲) ácidos e (■) controle.

5 - RESUMO E CONCLUSÕES

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de adequar as etapas de processamento do cogumelo shiitake e avaliar as características físico-químicas e microbiológicas dos mesmos, durante 120 dias de armazenamento sob o congelamento.

Concluiu-se que o branqueamento não é satisfatório como etapa do processamento do cogumelo shiitake, pois provoca perda de água excessiva do cogumelo, resultando em amolecimento acentuado, além de resultar em cogumelos com aparência indesejável.

O tratamento com o composto clorado orgânico foi mais efetivo do que os tratamentos com ácidos orgânicos na manutenção da qualidade dos cogumelos durante o armazenamento sob congelamento. Além disso, foi mais eficaz na redução no número inicial da microbiota contaminante, mantendo também maior diferença no final do experimento, em relação ao tratamento controle.

Além disso, o tratamento com o composto clorado orgânico proporcionou melhores valores de textura do que os demais tratamentos, até o terceiro mês de armazenamento. O valor do pH dos cogumelos tratados com o composto clorado foi também mais próximo ao dos cogumelos frescos dos que os demais tratamentos.

Verificou-se que o congelamento rápido é mais eficiente na manutenção da textura dos cogumelos, principalmente nos dois primeiros meses de armazenamento.

Os cogumelos congelados pelo método rápido perderam menos água, quando descongelados, mantendo, assim, melhor aparência, evitando, também, maior redução de peso, o que evita perdas econômicas.

Notou-se, ainda, que o congelamento rápido foi superior ao congelamento lento, quando se comparou o teor de vitamina D, mantendo níveis mais altos da vitamina durante todo o armazenamento.

Verificou-se um aumento da atividade das PPOs com o tempo, independente do tratamento, o que pode explicar a redução dos valores de L^* , evidenciando o escurecimento dos cogumelos ao longo do armazenamento.

Até 30 dias de armazenamento, para os cogumelos congelados pelo método lento, e 60 dias de armazenamento, para os cogumelos congelados pelo método rápido, a aparência e o cheiro dos cogumelos ainda foram satisfatórios, mas após esse período os cogumelos apresentaram um forte escurecimento, produziram mau cheiro e ficaram muito amolecidos.

Para o experimento proposto, o melhor tratamento encontrado foi o tratamento sanitizante em solução com cloro, congelado por congelamento rápido, com os resultados aceitáveis até 60 dias de armazenamento.

A preservação por congelamento dos cogumelos precisa ser avaliada, buscando-se alternativas, especialmente na área dos mecanismos para o retardamento da produção do *off-flavor* no cogumelo, incluindo o uso de aditivos permitidos para alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNELLI, M. E.; MASCHERONI, R. H. Quality evaluation of foodstuffs frozen in a cryomechanical freezer. **Journal of Food Engineering**. v. 52, p. 257-263, 2002.

ASHIE, I. N. A.; SIMPSON, B. K. Application of high hydrostatic pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration. **Food Research International**, v. 29, p. 569-575, 1996.

BEAULIEU, M.; D'APRANO G.; LACROIX, M. Effect of dose rate of gamma irradiation on biochemical quality and browning of mushrooms *Agaricus bisporus*. **Radiation Physics and Chemistry**. v. 63, p. 311-315, 2002.

BEW, R. E., CHAPMAN, J. R., JONES, R. H., LOWE, B. E., LOWE, G. Natural acetylenes part XVIII. Some allenics polyacetylenes from basidiomycetes. **Journal Chemical Society**, p.129-135, 1966.

BEZERRA V. S.; PEREIRA R.G. F. A.; CARVALHO V. D.; VILELA, E.R. Raízes de mandioca minimamente processadas: efeito do branqueamento na qualidade e na conservação. **Ciência agrotecnica**, Lavras, v.26, n.3, p.564-575, 2002.

BRENNAN M.; LE PORT G.; GORMLEY R. Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend shelf life of fresh sliced mushrooms. **Lebensmittel Wissenschaft Journal Technology**. v. 33, p. 285-289, 2000.

BRENNAN, M.; LE PORT G.; PULVIRENTI, A., GORMLEY R. The effect of sodium metabisulphite on the whiteness and keeping quality of sliced mushrooms. **Lebensmittel Wissenschaft Journal Technology**, v.32, p. 460-463, 1999.

BRON I. U. et al. Alterações anatômicas e físico-químicas associadas ao armazenamento refrigerado de pêssegos 'Aurora-1' e 'Dourado-2'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1349-1358, 2002

BUSWELL, J.; CAI, Y. J.; CHANG, S. T. et al. Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.12, p.473-476, 1996.

CARNELOSSI, M.G.A. Fisiologia pós-colheita de folhas de couve (*Brassica oleracea*, L. var. *acephala*) minimamente processada. Viçosa-MG. Universidade Federal de Viçosa, 2000, 81p. Tese de doutorado em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

CARVALHO, V. D.; ABREU, C. M. P. Frutas do Brasil 5. Abacaxi Pós-Colheita Transporte E Armazenamento. 2000 Embrapa. Disponível: <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/pdf/poscolheita/5tranarm.PDF>. Acesso julho 2003.

CARDONA U., F.T. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* **Crónica Forestal Y Del Medio Ambiente** vol. 16, p. 99-119, 2001.

CHANG, R. Functional properties of edible mushrooms. **Nutrition Reviews**, v.54, p. 591-593, 1996.

CHANG, S. T. Mushrooms as human food. **Bioscience**, v.30, n.6, p.399-401, 1980.

CHANG, S. T. World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China. **International Journal of Medicinal Mushrooms**. v. 1, p. 291-300. 1999.

CHANG, S. T. Worldwide specialty mushrooms production. **The Mushroom Journal**, v. 20, p543., 1995.

CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A. Mushroom Nutraceuticals. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.12, n.5, p.473-476, 1996.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China. **Mushroom Journal Tropics**, v.7, p.31-37, 1987.

CHEUNG L.M.; CHEUNG P.C.K.; OOI V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**. v.81, 249-255. 2003.

CHIBATA, L.; OKUMURA, K.; TAKEYAMA, S.; KOTERA, K. Lentinamicin: a new hypocholesterolemic substance in *Lentinus edodes*. **Specialia Experientia**, v.25, n.12, p.1237-1238, 1969.

CHIHARA, G. Antitumor and immunological properties of polysaccharides from fungal origin. **Mushroom Science**, v.9, n.2, p.797-814, 1978.

CHIHARA, G., MAEDA, Y. Y., HAMURO, J., SASAKI, T., FUKUOKA, F. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) **Sing. Nature**, v. 222, n.17, p.687-688, 1969.

DESROSIER, N.W., TRESSLER, D. K., Fundamentals of Food Freezing; **The Avi Publishing Company**, 112-114, 1977.

DRESSER, D. W.; PHILLIPS, J. M. The orientation of the adjuvant activities of *Salmonella typhosa* lipopolysaccharide and lentinan. **Immunology**, v.27, p.895-902, 1974.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations - **Statistics Database**. Disponível em: http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.Asp. Acesso em julho,2003.

FERREIRA, J. E. F. Produção de cogumelos. 1ª Edição. Guaíba-RS, Livraria e Editora Agropecuária, 1998. 137p.

FONTES, T. C.; LOPES, M. N. F. Congelamento de alimentos – Técnicas e Normas. 1ª Edição. Viçosa-MG, Imprensa universitária -Universidade Federal de Viçosa 1992, 68 P.

FUJII, T., MAEDA, H., SUSUKI, H., ISHIDA, N. Isolation and characterization of a new antitumor polysaccharide, KS-2, extracted from culture mycelia of *Lentinus edodes*. **The Journal of Antibiotics**, v.31, n.11, p.1079-1090, 1978.

FUSTER, C.; PRESTAMO, G. e ESPINOSA, J. Influence of treatments prior to freezing on the quality and stability of fruits and vegetables during storage. Symposium Thermal Processing and Quality of Foods, Madrid, Espanha, European Cooperation in Scientific & Technical Research, p. 671-677, 1984.

GIMENEZ M; GONZALEZ-FANDOS E.; OLARTE, C.; SANZ, S.; SIMON, A. Effect of packaging conditions on the growth of micro-organisms and the quality characteristics of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*) stored at inadequate temperatures. **Journal Applicattion Microbiology**, vol. 89, n.4, p.624-32, 2000.

GOMES M.R.A.; LEDWARD D. A. Effect of high-pressure treatment on the activity of some polyphenoloxidases. **Food Chemistry**, v. 56, n.1, p. 1-5, 1996.

GORMLEY T.R.; O'RIORDAIN F. Quality evaluation of fresh and processed oyster mushrooms. **Lebensmittel Wissenschaft Journal Technology** v. 9, p.75-78, 1976.

GORMLEY T.R. Mushroom Processing Retaining Colour Without Losing Weight. **Farm and Food Research**, v. 17, n. 3, p. 71-73, 1986.

GOTO, S.; SAKAI, S.; KERA, J. et al. A case report of recurrent cervical cancer with responded to a combination of biological therapies. **European Journal Gynaecology**, v.3, p.235-240, 1994.

HUANG, C. P.; LEE, Y. H. Cultivation and processing of edible mushroom. In: Processing vegetables, Science and Technology. Cap. 7, p.195-206. 1997

JAYAS, D. S.; JEYAMKONDAN, S, Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables, **Postharvest Technology** v. 82, n. 3, p. 235–251, 2002.

KADER, A. A. Effects of Postharvest handling procedures on tomato quality. **Acta Horticulturae** 190, 209-221. 1986.

KADER, A. A. Influence of preharvest and postharvest environment on nutritional composition of fruits and vegetables, In: B. Quebedeaux and F.A. Bliss (editores). Horticulture and human health, contributions of fruits and vegetables. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, p. 18-32. 1988.

KADER, A. A. Postharvest Technology of Horticultural Crops. 2ª edição, University of California, Division of Agricultural and Natural Resources. 3311, p. 296. 1992.

KADER, A. A. **Quality Assurance of Harvested Horticultural Perishables** Department of Pomology, University of California, USA. 2001.

KIM, B. S.; KLIEBER, A. Quality maintenance of minimally processed chinese cabbage with low temperature and citric acid dip. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 75, n.1, p. 31-36, 1997.

KUYPER L.; WEINERT, I. A. G. E.; MCGILL, A. E. J. The effect of modified atmosphere packaging and Addition of calcium hypochlorite on the Atmosphere Composition, colour and microbial quality of mushrooms. **Lebensmittel Wissenschaft Journal Technology**, v. 26, p. 14-20, 1993.

LUH, B. S.; FEINGERG, B.; MEEHAM, J. J. Freezing Preservation of vegetables In: LUH, B. S.; WOODROOF, J. G., Comercial vegetable processing. 1ª edição, AVI Westport, Conn. USA, Capt 8, 784p.1975.

MANZI, P.; MARCONI, S.; AGUZZI, A.; PIZZOFERRATO L.; Comercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. **Food Chemistry**, v. 84, p. 201-206, 2004

MARSHALL, M. R.; KIM J.; WEI, C. Enzymatic Browning in Fruits, Vegetables and Seafoods , Disponível em: <http://www.fao.org/ag/ags/agsi/ENZYMFINAL/Enzymatic%20Browning.html>. Acesso em 2000.

MATA, G.; SAVOIE, J. M. Extracellular enzyme activities in six *Lentinula edodes* strains during cultivation in wheat straw. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.14, p.513-519, 1998.

MATSER, A. M. et al. Effects of high isostatic pressure on mushrooms. **Journal of food engineering**, v. 45, p. 11-16, 2000.

MCDONALD, K.; SUN DA-WEN. Vacuum cooling technology for the food processing industry: a review. **Jornal of Food Engineering**, v. 45, p. 55-65, 2002.

MORO, V.; GORMLEY, T.R. Methods for assessing freezing damage in strawberries and mushrooms. **Farm & Food**, p.37-40, Winter 1998/1999.

NARVAIZ, P. Some physicochemical measurements on mushrooms irradiate to extend shelf life. **Lebensmittel Wissenschaft Journal Technology** v. 27, p. 7-10, 1994.

NASS - National Agricultural Statistics Service - Agricultural Statistics Board - U.S. Department of Agriculture. Disponível em: <http://usda.mannlib.cornell.edu/>. Acesso em agosto, 2003.

NUSSINOVITCH, A. E.; KAMPF, N. Shelf life extension and conserved texture of alginate-coated mushrooms. **Lebensmittel Wissenschaft Journal Technology** v. 26, p. 469-475, 1993

ODDSON L. E.; JELEN, P. Food processing potential of the oyster mushroom. **Canadian Institute Food Science and Technology**. v. 14, p. 36-41, 1981.

OHGA, S. Adaptability of *Lentinus edodes* strains to a sawdust-based cultivating procedure. **Mokuzai: Gakkaishi**, v.38, n.3, p.301-309, 1992.

PASQUAL, M.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J.D. Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicação. 1ª edição, Lavras: UFLA, 1997. 159p.

PILON, L. Estabelecimento de vida útil de hortaliças minimamente processadas sob atmosfera modificada e refrigeração. Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2003. 111p. Tese de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ).

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H., Food Science, 5ª edição, Chapman & Hall, p. 175-198, 1995.

PRZYBYLOWICZ, P.; DONOGHUE, J. Shiitake growers handbook – the art and science of mushroom cultivation. New York: Kendall/Hunt Publishing Company, 1990. 217p.

QUINTANA, V. A.M.; GONZALÉZ, S. J. M. L.; COLLADO, F. M. Influence of canning process on colour, weight and grade of mushrooms. **Food Chemistry**, v. 66, p. 87-92, 1999.

RAJARATHNAM S.; SHASHIREKHA M.N.; RASHMI S. Biochemical changes associated with mushroom browning in *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach and *Pleurotus florida* (Block & Tsao): commercial implications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 14, p. 1531-1537, 2003.

REYES, V.G. Improved preservation system for minimally processed vegetables. **Food Australia**. v. 48, p. 87-90, 1996.

SANTANA, C.C. Processamento mínimo de cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*).Viçosa-MG. Universidade Federal de Viçosa, 2003. 60p. Tese de mestrado em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

SIGRIST, J.M.M. Estudos fisiológicos e tecnológicos de couve flor e rúcula minimamente processadas. Piracicaba-SP. Escola Superior de Agricultura "Luiz

de Queiroz", 2002. 112p. Tese de doutorado em Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ).

SINGH, R. P.; HELDMAN, D. R. Introduction to Food Engineering; Academic Press, 299-328, 1993.

STAMETS, P; CHILTON, J. S. The mushroom Cultivator. 1ª Edição, Washington, USA. Agarikon Press, 1983, p.15.

SUGA, T.; SHIIO, T.; MAEDA, Y. Y. et al. Antitumor activity of lentinan in murine syngeneic and autochthonous hosts and its suppressive effect in 3-methylcholantrene-induced carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 44, p. 5132-5137, 1984.

SUGIYAMA, K.; ARASHI, T.; YAMAKAWA, A. The hypocholesterolemic action of *Lentinus edodes* is evoked through alteration of phospholipid composition of liver microsomes in rats. **Nutricional Biochemistry**, v.57, p.1983-1985, 1993.

SUGIYAMA, K; AKACHI, T.; YAMAKAWA A. Hypocholesterolemic action of eritadenine is mediated by a modification of hepatic phospholipid metabolism in rats. **Journal Nutrition**, v.125, n.8, p. 2134-44, 1995.

SUN N.; LEE S.; SONG K. B. Effect of high-pressure Treatment on the molecular Properties of mushroom Polyphenoloxidase. **Lebensmittel Wissenschaft Journal Technology** vol. 35, p. 315-318, 2002.

SUSLOW, T. E.; CANTWELL, M. Fresh Produce Facts at Mushrooms Disponível em: <http://www.postharvest.ucdavis.edu/>. Acesso em maio, 2003.

SUZUKI, M.; TAKATSUKI, F.; MAEDA, Y. Y.; HAMURO, J.; CHIHARA, G. Antitumor and immunological activity of lentinan in comparison with LPS. **International Journal of Immunological**, v.16, n.5/6, p.463-468, 1994.

TAKAMURA, K.; HOSHINO, H.; SUGAHERA, T.; AMANO, H. Determination of vitamin D2 in shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v.545, p.201-204, 1991.

TORRE J.; LORENZO, M.P.; MARTINEZ-ALCAZAR M.P., BARBAS C. Simple high performance liquid chromatography method for α -tocoferol measurement in *Rosmarinus officinalis* leaves - New data on α -tocoferol content. **Journal of Chromatography A**, v.919, p. 305-311, 2001.

TSUNEDA, A. Shiitake and other edible mushrooms cultivated in Japan: Production, Biology, and Breeding. Spices, Herbs and Edible Fungi, p.685-727, 1994.

TSUNEDA, A.; MAEKAWA, N.; OHIRA, I. Incipient decay of *Quercus serrata* sapwood by *Lentinus edodes* and its inhibition by an antagonist hyphomycete, *Leptodontidium elatius*. **Canadian Journal Botany**, v.69, p.2797- 2805, 1991.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3. ed. Washington: **American Public Health Association**, 1992. 1219p.

VILLASECUSA R.; GIL M.I. Quality improvement of *Pleurotus* mushrooms by modified atmosphere packaging and moisture absorbers. **Postharvest Biology and Technology**, v.28, p. 169-179, 2003.

VILELA, P. S. Cogumelos: Mercado e Comercialização. Faemg - Federação da Agricultura do estado de Minas Gerais. Disponível em <http://www.faemg.org.br/artigos.asp>. Acesso em maio, 2003.

VITTI M.C.D. Aspectos Fisiológicos e microbiológicos em beterrabas minimamente processadas. Piracicaba-SP. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2003. 116p. Tese de mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ).

WANG, N. L. Present condition and prospects of edible mushroom industry in China. **Edible Fungi of China**, 17, v.5, n.3, 1998.

WHITAKER, J. R.; LEE C. Y. Enzymatic Browning and It's Prevention. American Chemical Society Symposium Series 600, 2-7, American Chemical Society, Washington, D. C. 1995.

WOODROOF, J. Washing, Blanching, peeling and preparation - Capt 8, em LUH, B. S.; WOODROOF, J. G., ., Comercial vegetable processing. 1ª edição, AVI Westport, Conn. USA, Capt 8, 784p.1975

ZANG M.; DUAN Z.; ZHANG J.; PENG J. Effects of freezing conditions on quality of areca fruits. **Journal of food engineering**. Article in press. 2003.

ANEXOS

ANEXO A

Quadro 1A – Análise de variância para o teste preliminar, em função do tratamento

1. Variáveis analisadas	
Classes	Níveis
Tratamento (TRAT)	13
Repetições (REP)	2
Total de observações	26

F.V.	G.L.
TRAT	12
Erro	13
Total	25

Quadro 2A – Análise de variância para cada característica da análise físico-química, em função do tempo de armazenamento para cada tratamento e por tipo de congelamento

1. Variáveis analisadas	
Classes	Níveis
Congelamento (CONG)	2 Rápido, Lento
Tratamento (TRAT)	4 Sumaveg [®] , Sumaveg [®] + Ácidos, Ácidos, Controle
Repetições (REP)	3 1, 2, 3
Tempo (TEMP)	5 0, 1, 2, 3, 4 meses
Total de observações	120 ⁽¹⁾

F.V.	G.L.
CONG	1
TRAT	3
CONG X TRAT	3
Erro (a)	16
TEMP	4
CONG X TEMP	4
TRAT X TEMP	12
CONG X TRAT X TEMP	12
Erro (b)	64
Total	119

⁽¹⁾ Observações por característica.

Quadro 3A – Análise de variância resumida para o teste preliminar

F.V.	GL	Cor	Perda de Água
Tratamento	12	25,68040**	31.41681**
Resíduo (A)	13	0,5186744	6.675251

OBS: Valores seguidos por *, diferença significativa a 5%, valores seguidos por **, diferença significativa a 1%.

Quadro 4A – Análise de Variância resumida para o delineamento experimental proposto

F.V.	GL	Ph	PPOs	Perda Água	Cor	Textura	Vitamina D
Congelamento	1	0,0029	35487,0418	424,7674**	34,9057	2361820,618*	92,58543**
Tratamento	3	1,4965**	16125,8059	32,5344	54,3921	1146768,56	4,825814
Congelamento X Tratamento	3	0,0373	15601,0384	55,9341	2,0612	13355,262	13,63810
Resíduo (A)	16	0,2431	80882,9300	31,9520	40,9436	513659,796	11,54253
Tempo	4	0,0916*	101994,2236**	50,9519*	46,3747**	1542095,311**	8,04988
Congelamento X Tempo	4	0,0144	5145,9800	29,9427	1,0068	147101,219**	1,389115
Tratamento X Tempo	12	0,0391	7632,1358	11,6281	2,4588	33382,168*	1,509792
Congelamento X Tratamento X Tempo	12	0,0164	10731,6685	6,6976	2,9369	8817,874	1,525047
Resíduo (B)	64	0,0282	7839,3650	18,4359	6,1505	13894,922	4,422513

ANEXO B

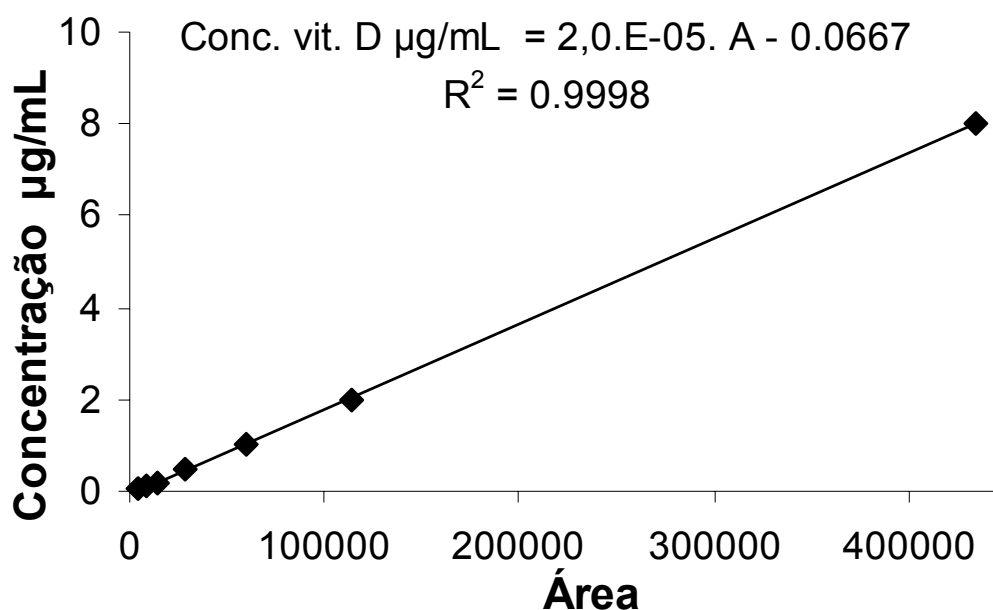


Figura 1B – Curva padrão para concentração de vitamina

Para cada tratamento, temos:

Grupo I => Cogumelos lavados e tratados com o sanitizante Sumaveg®.

Grupo II => Cogumelos lavados e tratados com solução dos Ácidos Cítrico e Ascórbico, 0,5% cada um.

Grupo III => Cogumelos lavados, tratados com o sanitizante Sumaveg® e com a solução dos Ácidos Cítrico e Ascórbico, 0,5% cada um.

Grupo IV => Controle. Cogumelos lavados que não receberam nenhum outro tipo de tratamento antes do congelamento.