

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA
PAULA SOUZA**

**FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE RAFAEL ALMEIDA
CAMARINHA**

CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

INGRID DA SILVA APOLINARIO

**DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE “QUEIJO” VEGETAL COM
EXTRATO AQUOSO DE AMENDOIM E TRANSGLUTAMINASE
MICROBIANA COMO AGENTE TECNOLÓGICO**

**MARÍLIA/SP
1º SEMESTRE/2023**

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA
PAULA SOUZA**

**FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE RAFAEL ALMEIDA
CAMARINHA**

CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

INGRID DA SILVA APOLINARIO

**DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE “QUEIJO” VEGETAL COM
EXTRATO AQUOSO DE AMENDOIM E TRANSGLUTAMINASE
MICROBIANA COMO AGENTE TECNOLÓGICO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Tecnologia
de Marília para obtenção do Título de
Tecnólogo(a) em Alimentos

Orientador: Prof. Dra. Elke Shigematsu

**MARÍLIA/SP
1º SEMESTRE/2023**

RESUMO

O queijo vegetal se enquadra na categoria de análogo de queijo não lácteo a base de plantas, tubérculos e leguminosas. A enzima Transglutaminase microbiana (MTGase; proteína-glumanina γ -glumatil transferase, EC 2.3.2.13) apresenta propriedades que alteram profundamente a estrutura proteica alimentar sem alterar seu sabor e valor nutricional, sendo que nos queijos vegetais a enzima oferece estabilidade e melhoria na textura. , o objetivo deste trabalho foi desenvolver um “queijo” vegetal a partir de extrato aquoso de amendoim contendo a enzima Transglutaminase microbiana como agente estruturante, e avaliar as propriedades físico-químicas e microbiológicas em comparação ao “queijo” vegetal com extrato aquoso de amendoim sem a MTGase. Para isso os grãos de amendoim foram macerados, triturados e filtrados e o extrato aquecido e adicionado de Sulfato de Magnésio ($MgSO^4$) (0,25%, p:v) e MTGase (0,3%, p:v). As amostras foram armazenadas e analisadas quanto a concentração proteica e rendimento, coliformes totais e termotolerantes, mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella species (sp)*, bolores e leveduras conforme métodos American Public Health Association (APHA). O emprego da MTGase aliada ao Sulfato de Magnésio ($MgSO^4$) viabilizou melhorias na estruturação, estabilidade microbiológica e teores proteicos do produto. O “queijo” com extrato aquoso de amendoim representa um produto inovador, tecnológico e inclusivo, além de contribuir para o aumento do consumo de amendoim e a diversificação de produtos com essa matéria-prima.

Palavras-chave: Queijo vegetal. Transglutaminase microbiana. Amendoim. Propriedades físico-químicas.

ABSTRACT

Vegetable cheese falls into the category of non-dairy cheese analog made from plants, tubers, and legumes. The microbial Transglutaminase enzyme (MTGase; protein-glutaminy γ -glutamyl transferase, EC 2.3.2.13) exhibits properties that profoundly alter the protein structure of food without affecting its taste and nutritional value. In vegetable cheeses, the enzyme provides stability and improves texture. The objective of this study was to develop a vegetable "cheese" using an aqueous extract of peanuts containing the microbial Transglutaminase enzyme as a structuring agent, and to evaluate the physicochemical and microbiological properties of the product. To achieve this, peanuts were macerated, crushed, and filtered, and the extract was heated and supplemented with Magnesium Sulfate (MgSO_4) (0.25% v/v) and MTGase (0.3% v/v). The samples were stored and analyzed for protein concentration and yield, total and thermotolerant coliforms, mesophiles, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* species (sp), molds, and yeasts using methods established by the American Public Health Association (APHA). The use of MTGase in combination with Magnesium Sulfate (MgSO_4) allowed for improvements in structuring, microbiological stability, and protein content of the product. The "cheese" made with an aqueous extract of peanuts represents an innovative, technological, and inclusive product, while also contributing to increased consumption of peanuts and diversification of products using this raw material.

Keywords: Plant-based cheese. Microbial transglutaminase. Peanut. Physicochemical properties.

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO.....	04
2.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....	06
2.1 Obtenção do extrato aquoso de amendoim.....	07
2.2 Obtenção do “queijo” vegetal.....	07
2.3 Análises físicas e químicas.....	08
2.4 Análises microbiológicas.....	08
3.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	09
3.1 Concentração de proteínas.....	09
3.2 Rendimento.....	10
3.3 Análises microbiológicas.....	11
4.0 CONCLUSÃO.....	13
REFERÊNCIAS.....	14

1 INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados são alimentos extremamente consumidos, sendo o queijo um dos itens de maior consumo, abrangendo 30% da produção mundial de leite (PAULA, 2013).

Apesar de ser muito apreciado por boa parte da sociedade o queijo e derivados do leite vem se tornando alimentos com grandes limitações, visto que há um forte crescimento de indivíduos que por restrições fisiológicas ou opções filosóficas não consomem o leite e seus produtos.

Em grande parte das espécies mamíferas a amamentação ocorre apenas no período da primeira infância sendo comum a diminuição da atividade da enzima lactase responsável por digerir a lactose após o período de amamentação, diferente das demais, a espécie humana possui o consumo contínuo do leite mesmo na vida adulta, dando início a hipolactasia responsável pelos sintomas de desconforto abdominal, diarreias e flatulências após o consumo do leite, esses sintomas tendem a variar de acordo com a quantidade de leite ingerida e a idade do indivíduo, visto que com o passar dos anos os desconfortos tendem a piorar.

A alergia a proteína do leite de vaca (APLV) se trata de uma reação de hipersensibilidade as proteínas e é mais comum na primeira infância atingindo até 27,5% de crianças, sendo a faixa etária de 1-3 anos a mais afetada (17%). A APLV na fase adulta é extremamente incomum, porém em raros casos os sintomas em adultos se mostram severos (ODERA, 2015; VERDUCI, ZUCCOTTI, PERONI, 2022).

Além dos indivíduos impossibilitados fisiologicamente de consumir derivados do leite existem também os que por escolhas filosóficas optam por não ingerir estes tipos de produtos, os veganos se posicionam contra o consumo de qualquer tipo de alimento ou item que seja de natureza animal (CRUZ, 2021).

O queijo vegetal se enquadra na categoria de análogo de queijo não lácteo a base de plantas, tubérculos, leguminosas, entre outras, os análogos são produtos que tem características sensoriais similares ao queijo, sendo a gordura do leite substituída total ou parcial por outras gorduras ou óleos vegetais.

O *Arachis hypogaea* L. ou amendoim como é popularmente conhecido, é uma leguminosa de origem sul-africana e se destaca por sua composição proteica (25%) e lipídica (50%) tornando-se uma excelente fonte de aminoácidos e energia para a dieta

humana (FREIRE et al., 2005). Possui em sua composição a presença de ômega 3 e ômega 6, responsáveis por auxiliar na redução dos níveis de triglicérides na pressão arterial e no sangue, participam da estrutura de membranas celulares, o que influencia nas funções plaquetárias, permeabilidade dos vasos e viscosidade sanguínea. Além dos ácidos graxos, o amendoim contém minerais como o magnésio, cálcio, selênio e ferro que possuem benefícios na redução do estresse celular, melhora da cicatrização e fortalecimento da estrutura óssea. Apresenta ainda, excelentes quantidades de vitaminas E, B9 e B3, nutrientes com ação antioxidante, formação de proteínas estruturais e hemoglobinas (MOUTA, 2014).

Apesar da alta produção, exportação e sua extensa lista de nutrientes e benefícios, o consumo nacional do amendoim gira em torno de 1,1kg/ per capita por ano, valor baixo quando comparado a países como a China (12,8 kg/per capita/ano) e EUA (6,7 kg/per capita/ano) (FIESP e ABICAB, 2021). Assim, considerando os inúmeros benefícios à saúde, torna-se necessário aumentar o consumo do amendoim, abrindo espaço no mercado para a diversificação na elaboração de produtos à base desta leguminosa.

O Brasil ainda não possui legislação para regulamentar a produção de alimentos “análogos”, tal fato não impede que diversas pesquisas e produtos sejam desenvolvidos com a finalidade de elaborar um produto com as qualidades do queijo comum combinadas com as propriedades nutricionais, funcionais e tecnológicas dos vegetais (MALISZEWSKI, 2020).

O processo de preparo dos queijos vegetais é similar ao tradicional, sendo o primeiro passo a obtenção do extrato aquoso vegetal. Após sua obtenção, o extrato aquoso passa pela etapa de coagulação com adições de coagulantes que promovem a precipitação das proteínas estruturando assim uma rede proteica, que assume a configuração de um gel aprisionando em sua malha proteínas, gorduras e minerais. Em seguida, o gel sofre o corte e a dessoragem para eliminação do excesso de soro (KAMIZAKE; SILVA; PRUDENCIO, 2016; PRETTI,2010).

A etapa de coagulação é a mais crítica para se obter bom rendimento e uma boa estruturação do queijo, conseqüentemente a escolha do coagulante deve ser feita a fim de desenvolver as melhores qualidades para o produto.

A enzima Transglutaminase microbiana (MTGase; proteína-glumanina γ -glutamil transferase, EC 2.3.2.13) apresenta propriedades que alteram profundamente a estrutura proteica alimentar sem alterar seu sabor e valor nutricional, sendo que nos

queijos vegetais a enzima oferece estabilidade e melhoria na textura (GÓES-FAVONI; BUENO, 2014; SILVESTRO, 2019).

As propriedades funcionais conferidas pela transglutaminase ocorrem por meio da ligação da enzima com um substrato proteico que contém aminoácidos específicos, como a glutamina. Esse processo envolve a formação de um complexo entre a enzima e o substrato por meio de uma reação de acilação. Nessa reação, a enzima transfere um grupo acila para o grupo amino do resíduo de glutamina presente na proteína. Após a formação do complexo enzima-substrato, ocorre uma reação de desaminação do resíduo de glutamina, resultando na formação de ligações covalentes (isopeptídica) entre o grupo amino da glutamina e um resíduo de aminoácido livre, geralmente a lisina, em outra molécula de proteína (BUETTNER et al., 2012; ABD-RABO et al. 2010; OZER et al. 2007).

Assim as reações catalisadas pela MTGase resultam em mudanças significativas nas propriedades físicas e químicas das proteínas, como modificações na viscosidade, estabilidade térmica, elasticidade e resistência das proteínas favorecendo as características funcionais e estruturais dos alimentos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um “queijo” vegetal a partir de extrato aquoso de amendoim contendo a enzima Transglutaminase microbiana como agente estruturante, e avaliar suas propriedades físico-químicas e microbiológicas do produto.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os grãos de amendoim usados para a obtenção do extrato aquoso foram fornecidos pela empresa Safenuts Comércio, importação e exportação, localizada na cidade de Marília-SP. A enzima transglutaminase microbiana (MTGase, E.C. 2.3.2.13) composta por 99% de maltodextrina e 1% de transglutaminase (com atividade de 100 U.g⁻¹) (ACTIVA WM®) foi fornecida pela empresa Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda. O coagulante usado foi o sulfato de magnésio (MgSO₄ - (Synth®) pentahidratado.

2.1 Obtenção do extrato aquoso de amendoim

Para obtenção do queijo de amendoim com e sem a adição de MTGase microbiana, grãos de amendoim do tipo Runner calibre 38/42 despelculados, foram mantidos em maceração (1:2; m/v; grãos: água) por 24 horas em temperatura ambiente. Decorrido o tempo, os grãos foram drenados e em seguida triturados em liquidificador doméstico (Oster) em velocidade média durante 5 minutos com adição de água na concentração 1:2 (m/V) em temperatura ambiente. Após a trituração o material foi filtrado em uma peneira de aço inox abertura de 2,30 mm com auxílio de um tecido de algodão. O resíduo sólido foi descartado e o extrato aquoso foi levado em fogo direto durante 10 minutos em temperatura de $90^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

2.2 Obtenção do “queijo” vegetal

O extrato aquoso de amendoim foi dividido em duas amostras sendo uma delas usada para a produção da amostra Controle (sem adição de MTGase) e a outra para a obtenção da amostra contendo a enzima. Nas duas amostras, em temperatura ambiente, foram adicionados 0,25% de MgSO_4 diluído previamente em 50 mL do extrato aquoso seguido de homogeneizado. Na amostra contendo MTGase, após a adição do coagulante foram adicionados 0,3% da enzima diluída previamente em 50 mL do extrato aquoso de amendoim seguido de homogeneização.

Para a coagulação, as duas amostras (Controle e amostra contendo MTGase) foram mantidas em repouso durante 90 minutos em temperatura ambiente; passado o período de coagulação os coágulos foram cortados e transferidos para formas de policloreto de vinila (PVC) de 7,5 cm de diâmetro forradas com tecido voile.

Pela diferença de textura os coágulos foram submetidos a pressões diferentes: o coágulo contendo MTGase foi mantido sob pressão de 330 g durante 60 minutos para dessoragem, enquanto o coágulo da amostra Controle foi mantido sob pressão de 175 g durante 60 minutos para dessoragem.

Os queijos foram desenformados e armazenados sob refrigeração durante 24 horas em recipientes plásticos de policarbonato até as análises físico-químicas e microbiológicas.

2.3 Análises físicas e químicas

O rendimento dos queijos vegetais foi calculado de acordo com Benassi, Yamashita e Prudencio (2011) conforme a equação (1) e os resultados expressos em g/100g de grãos:

$$\text{Equação 1: Rendimento} = \frac{(M1 \times V1)}{(M2 \times V2)} \times 100$$

Sendo M1= massa do queijo vegetal, V1= volume total do extrato aquoso de amendoim, M2= massa dos grãos de amendoim e V2= volume do extrato aquoso utilizado no preparo.

A absorção de água pelos grãos de amendoim após a maceração foi medida pela diferença de massa inicial dos grãos pela massa final e expressa em g de água absorvida/100g (BENASSI; BENASSI; PRUDENCIO, 2011).

As análises de umidade, atividade de água (Aw), proteínas e pH foram realizadas em triplicata conforme as metodologias do Instituto Adolfo Lutz (2008), sendo a umidade determinada pelo método de secagem direta em estufa a 105°C;

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl e as proteínas totais determinadas pelo uso do fator 5,46 próprio para amendoim, realizando a conversão de nitrogênio em proteína.

2.4 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas realizadas para *Salmonella spp.* seguiram o método da American Public Health Association (APHA) que possui como fases principais o isolamento e identificação da *salmonella spp.*, descrito por Silva et al. (2017).

Para a análise de Estafilococos coagulase positiva e *S. aureus* foi realizado o método APHA que utiliza o plaqueamento seletivo em meios como o Agar Baird Parker, seguido pela etapa de incubação, identificação e provas bioquímicas de catalase e Coagulase, seguindo o método oficial, conforme descrito por Salfinger e Tortorello (2015).

Para contagem de coliformes termotolerantes, coliformes totais e *Escherichia Coli* foi utilizado o método de número mais provável NMP, seguindo a metodologia APHA. As amostras são coletadas e preparadas para análise, envolvendo a diluição

da amostra para obter uma concentração apropriada de bactérias para contagem, as diluições são inoculadas em meios de cultura seletivos e são incubados em temperaturas específicas para permitir o crescimento das bactérias. Para a detecção de coliformes termotolerantes e *E. coli*, a incubação é feita a 44,5°C por 24 horas. Para coliformes totais, a incubação é realizada a 35°C por 24 a 48 horas; O resultado foi obtido pela contagem das colônias e expresso em UFC.g-1.

Para determinação de aeróbios mesófilos foi utilizada a metodologia de plaqueamento APHA 8:2015, o meio utilizado é o Agar padrão para contagem de placas (PCA); as placas de ágar PCA inoculadas são incubadas a uma temperatura de 30-37°C por um período de 48 a 72 horas. Essa temperatura e tempo de incubação são ideais para permitir o crescimento das bactérias aeróbias mesófilas. (SILVA et al. 2017).

Para contagem de bolores e leveduras foi realizado o método de plaqueamento em superfície APHA 21:2015 em meio PDA (SILVA et al. 2017).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na produção de queijo vegetal à base de extrato de amendoim, duas amostras foram obtidas usando como coagulante $MgSO_4$, sendo que em uma das amostras a enzima MTGase microbiana foi utilizada como agente estruturante do coágulo. Conforme Góes-Favoni et al. (2016), esta enzima realiza reações cruzadas entre cadeias proteicas dando firmeza ao coágulo, favorecendo sua similaridade com o produto tradicional e, portanto, sua aceitação.

3.1 Rendimento

O queijo vegetal com adição de MTGase microbiana obteve rendimento de 168,5 g/100g, enquanto na amostra controle o rendimento foi de 172,8 g/100g (Tabela 1). A amostra controle obteve 2,48% a mais de rendimento em comparação com o “queijo” acrescido de MTGase.

Diversos fatores podem ser responsáveis pelo rendimento dos queijos, de acordo com Min et al. (2005) a determinação de proteínas dos grãos está intimamente ligada com o rendimento do produto, conseqüentemente grãos com bons teores de proteína resultam em produtos com bom rendimento e conteúdo proteico. O teor de

proteínas observado na amostra Controle foi de 33,96 g/100g, enquanto a amostra contendo MTGase apresentou 36,87 g/100g, sendo 8,57% maior (Tabela 1).

Para Ciabotti et. Al (2009) a concentração do extrato aquoso interfere no rendimento do produto, em seus resultados na elaboração de produtos do tipo “queijo” à base de soja a diminuição da concentração do extrato resultou na redução do rendimento, mesmo com diferentes tipos de coagulantes, devido as quantidades de proteínas presentes no “leite” de soja. Benassi, Benassi e Prudencio (2011) realizaram o desenvolvimento de “queijos” do tipo tofu utilizando diferentes coagulantes vegetais e chegaram à conclusão de que o tamanho dos grãos pode interferir no rendimento do produto, sendo que grãos maiores tendem a apresentar melhores resultados de rendimento.

Góes-Favoni et al. (2019) desenvolveram tofu com ($MgSO_4$) (0,25%, p:v) e MTGase (0,3%, p:v) e obtiveram um produto com rendimento médio final de 241,4g/100g. Mafaldo (2019) desenvolveu “queijos” vegetais a partir do extrato aquoso de amendoim com adição de limão como agente coagulante e dois tipos de formulações diferentes e observou o rendimento variando entre 69,83% e 213,6%, concluiu-se que a concentração do coagulante é inversamente proporcional ao rendimento, visto que maiores concentrações resultam em menores rendimentos devido a maior expulsão de soro (sinérese).

Para a produção dos 'queijos' vegetais de amendoim, foi utilizada a mesma concentração de $MgSO_4$ (0,25% p/v) nas duas amostras. A diferença entre elas ocorreu na adição de MTGase (0,3% p/v) em apenas uma das amostras.

Como resultado, observou-se um teor proteico maior na amostra com a adição da enzima. Isso pode ser atribuído a dois fatores. O primeiro está relacionado à própria natureza das enzimas, que são proteínas com atividades catalíticas. Dessa forma, a adição da enzima resulta diretamente no aumento do teor proteico (ANA; MATIAS, 2019).

O segundo fator responsável pelo maior teor proteico na amostra com MTGase está relacionado à estruturação da rede proteica promovida por essa enzima. Conseqüentemente, forma-se um coágulo mais estável, mantendo as proteínas na parte sólida e impedindo que sejam perdidas no soro.

Em conjunto com a ação do coagulante, isso resultou em uma maior expulsão do soro e, conseqüentemente, em um rendimento menor (SOUZA; VIEIRA, 2019).

4.2 Concentração de proteínas

O teor de proteínas do “queijo” vegetal de amendoim com MTGase e da amostra controle estão apresentados na tabela 1.

A amostra controle e o “queijo” vegetal com adição de MTGase obtiveram rendimento proteico a partir do extrato aquoso de 95,39% e 103,56% respectivamente, tendo a amostra com enzima aproximadamente 8,57% a mais de teor proteico, demonstrando que a adição de transglutaminase ao processo de fabricação do queijo de amendoim levou a um aumento significativo na concentração de proteínas. A diferença observada entre as duas amostras sugere que a Transglutaminase desempenha um papel importante na retenção e estabilização das proteínas presentes no “queijo” de amendoim.

Tabela 1-Rendimento dos “queijos” e Concentração de proteínas (g/100g) em base seca, nos grãos de amendoim, extratos de amendoim aquoso, amostra padrão e “queijo” contendo MTGase;

Amostra	Proteínas (g/100g)	Rendimento (g de queijo/100g)
Grãos de amendoim	28,08	
Extrato de amendoim	35,60	
“Queijo” sem enzima	33,96	172,8
“Queijo” com enzima	36,87	168,5

Fonte: Autora (2023).

Oliveira et al. (2021) realizaram análises físico-químicas dos compostos bioativos de extrato aquoso de amendoim com e sem pele e obtiveram teores proteicos (base seca) semelhantes ao presente trabalho sendo 37,91g/100g de teor proteico para o extrato aquoso de grãos com pele e 39,70g/100g para o extrato aquoso de grãos sem pele.

Sharma (2018) elaborou queijo vegetal com extrato aquoso de amendoim fermentado com probióticos e obteve teor proteico médio de 30,6 e 30,1 g/100g para o produto com e sem adição de probióticos, respectivamente.

4.3 Análises microbiológicas

O “Queijo” vegetal com adição de MTGase e a amostra controle apresentaram resultados com ausência para *Salmonella sp*, Estafilococos coagulase positiva, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Tabela 2). A ausências desses microrganismos demonstra a eficiência das boas práticas de fabricação durante o processo

Tabela 2- Resultados microbiológicos (UFC/g) dos queijos com e sem MTGase.

Ensaio	Especificações	Queijo com MTGase	Amostra controle
<i>Salmonella sp</i>	Ausência 25g	Ausente	Ausente
Estafilococos coagulase positiva/g	Máximo 10 ² UFC/g	Ausente	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Máximo 10 ² UFC/g	Ausente	Ausente
Aeróbios mesófilos/g	-	Ausente	1,19 x 10
Bolores/g	-	Ausente	55 UFC/g
Leveduras/g	-	50 UFC/g	2,0 x 10 ³ UFC/g
Coliformes totais	-	Ausente	Presença
Coliformes termotolerantes	-	Ausente	Presença
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Ausente	Ausente

Fonte: Autora (2023)

A ausência de *Salmonella sp* é particularmente relevante, pois essa bactéria é conhecida por ser um patógeno transmitido por alimentos e pode causar doenças gastrointestinais graves em humanos. A observação da ausência de Estafilococos coagulase positiva/g também é um resultado promissor, uma vez que essa espécie de bactéria é conhecida por produzir toxinas que podem causar intoxicações alimentares. A ausência de *Escherichia coli* indica que o processo de produção foi capaz de evitar a contaminação fecal e minimizar o risco de presença de outros patógenos associados. A ausência de *Staphylococcus aureus* é um indicativo positivo da segurança microbiológica do produto. A presença dessa bactéria no queijo poderia ser preocupante, uma vez que ela poderia potencialmente produzir toxinas que podem causar intoxicação alimentar em consumidores. (WEI et al., 2022; OMAFUVBE; SHONUKAN; ABIOSE, 2000).

Em ambos os produtos a presença de leveduras podem caracterizar possíveis falhas na matéria prima ou na água utilizada para trituração e maceração (SOUZA; VIEIRA, 2019).

A presença de coliformes totais e termotolerantes, microrganismos aeróbios mesófilos e bolores somente na amostra controle sugere que a transglutaminase microbiana impediu o acesso destes micro-organismos no “queijo”, visto que a ação de catalisação e formação das ligações cruzadas entre as cadeias de proteínas exercida pela MTGase é mais eficaz e eficiente que a ação do Sulfato de Magnésio sozinho. A ação em conjunto do coagulante e da enzima é capaz de “sequestrar” e inutilizar rapidamente os aminoácidos presentes no substrato que seriam utilizados como alimentos de microrganismos que poderiam estar ali presentes em pequenas quantidades, inibindo total ou parcialmente sua ação de crescimento (GASPAR; GÓES-FAVONI, 2015; GÓES-FAVONI; BUENO, 2014; MOTOKI; SEGURO, 1998).

Apesar da presença dos microrganismos citados o produto encontra-se em acordo com as especificações exigidas pela Instrução Normativa N°161, de 1° de julho de 2022.

4 CONCLUSÃO

Ao fim do trabalho é possível concluir que o emprego da MTGase aliada ao Sulfato de Magnésio ($MgSO_4$) viabilizou melhorias na estruturação, estabilidade microbiológica e teores proteicos do produto.

O “queijo” com extrato aquoso de amendoim representa um produto inovador, tecnológico e inclusivo para os grupos com restrições alimentares e opções filosóficas contrárias ao consumo de leite e seus derivados, além de contribuir para o aumento do consumo de amendoim e a diversificação de produtos com essa matéria-prima.

REFERÊNCIAS

- A EVOLUÇÃO DAS ENZIMAS COAGULANTES. Joinville: Food Ingredients Brazil, v. 16, 2011. Mensal.
- ABD-RABO FHR, EI-DIEB SM, ABD-EI-FATTAH AM, Sakr SS (2010); Natural state changes of cows' and buffaloes' milk proteins induced by microbial transglutaminase. J Am Sci 6:612–620
- AMARANTE, J. O. Queijos do Brasil e do Mundo: Para Iniciantes e Apreciadores. São Paulo/SP: Mescla, 2015. ISBN 978-85-88641-36-5. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=6jXXCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=consumo+de+queijo+no+mundo&ots=C6EzzXbE-8&sig=v1aBh1h_1lI3_6tRB11nntiBUxg#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 15 set. 2022
- AMENDOIM quais os benefícios, devemos ou não comer. Intérprete: Dr Juliano Teles. Roteiro: Dr Juliano Teles. [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=t7bLNFQxqn8>. Acesso em: 12 set. 2022.
- ANA, P.; MATIAS, E. Bioquímica. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://dspace.uniceplac.edu.br/bitstream/123456789/1151/1/Fundamentos%20da%20bioqu%C3%ADmica%20-%20prote%C3%ADnas.pdf>. (2019)
- BENASSI, V. DE T.; BENASSI, M. DE T.; PRUDENCIO, S. H. Cultivares brasileiras de soja: características para a produção de tofu e aceitação pelo mercado consumidor. Semina: Ciências Agrárias, v. 32, n. Supl, p. 1901–1914, 6 dez. 2011.
- BENASSI, Vera de Toledo; YAMASHITA, Fabio; PRUDENCIO, Sandre Helena. A statistical approach to define some tofu processing conditions: uma abordagem estatística para definir algumas condições para processamento de tofu. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos Brasil, Campinas, v. 31, n. 4, p. 897-904, dez. 2011. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940111011>. Acesso em: 19 maio 2023.
- BESSA, Juliana Maria Rabeilo. Produção e caracterização de análogo de queijo à base de amêndoa de coco babaçu (*Attalea speciosa*). 2022. 58 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/71812>. Acesso em: 20 maio 2023.

- BUETTNER K, HERTEL TC, PIETZSCH M (2012) Increased thermostability of microbial transglutaminase by combination of several hot spots evolved by random and saturation mutagenesis. *Amino Acids* 42:987–996
- CALDEIRA, Filipa; DA CUNHA, José; FERREIRA, Maria Gomes. ALERGIA A PROTEÍNAS DE LEITE DE VACA. *Acta Médica Portuguesa*, v. 24, n. 4, 2011.3
- CIABOTTI, S. et al. Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de Lipoxigenase. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 30, n. 5, p. 920–929, 1 out. 2006.
- CIABOTTI et al. Propriedades tecnológicas e sensoriais de produto similar ao tofu obtido pela adição de soro de leite ao extrato de soja. v. 29, n. 2, p. 346–353, 1 jun. 2009.
- SABINO, Hilda. Conheça os benefícios do amendoim. [S. l.]: Hilda Sabino, 5 set. 2013. Disponível em: <https://saude.abril.com.br/alimentacao/conheca-os-beneficios-do-amendoim/>. Acesso em: 12 set. 2022.
- CORRÊA, M. M. Avaliação da qualidade tecnológica de sete cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) quanto à: absorção de água, tempo de cozimento, hard-shell e aos teores de ferro e zinco antes e após diferentes métodos de cozimento doméstico. tede.ufrrj.br, 11 jul. 2007.
- CRUZ, G.N.S; CARDOSO BARROS RIBEIRO, M. .; DE OLIVEIRA, V. R. Alimentos tipo queijo à base de extrato vegetal de amendoim: Desenvolvimento de requeijão e ricota. *Revista Ciência em Evidência*, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 76–86, 2021. DOI: 10.47734/rce.v1i2.1645. Disponível em: <https://ojs.ifsp.edu.br/index.php/cienciaevidencia/article/view/1645>.
- FREIRE, R. M. M., NARAIN, N. & SANTOS, R. C. Aspectos nutricionais de amendoim e seus derivados. In: Santos, R.C. (Ed.). *O agronegócio do amendoim no Brasil*. Campina Grande. Embrapa Algodão. 2005. pp.389–420.
- FIESP; ABICAB. AGRONEGÓCIO DO AMENDOIM NO BRASIL: Produção, Transformação e Oportunidades. 1. 1. ed. Brasil: Departamento do Agronegócio (Deagro) da Federação das Indústrias do Estado de São Paulo, 31 maio 2021. Disponível em: <https://sitefiespstorage.blob.core.windows.net/uploads/2021/05/file-20210531120131-agronegocio-do-amendoimproducao-transformacao-e-op.pdf>. Acesso em: 2 se
- GASPAR, A. L. C.; DE GÓES-FAVONI, S. P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review. *Food Chemistry*, v. 171, p. 315–322, mar. 2015.
- GÓES-FAVONI, S.P.; DORTA, C.; SHIGEMATSU, E.; TANAKA, A. Y.; HINTER, M.H.; CARDOSO, J. R. Tofu estruturado com transglutaminase microbiana

e com adição de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *Revista Alimentus Ciência e Tecnologia*, n. 6. p. 75-90, 2019.

- GÓES-FAVONI, S. P.; BUENO, F. R. Microbial Transglutaminase: General Characteristics and Performance in Food Processing Technology. *Food Biotechnology*, v. 28, n. 1, p. 1–24, 2 jan. 2014.
- GONÇALVES, E. B.; CABRAL, L. C.; OLIVEIRA, F. A. MÉTODOS ESTATÍSTICO-SENSORIAIS PARA “OTIMIZAR” ABSORÇÃO DE ÁGUA EM SOJA DURANTE A MACERAÇÃO. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 3, p. 289–294, ago. 1998.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008. 1020 p
- KAMIZAKE, N. K. K.; SILVA, L. C. P.; PRUDENCIO, S. H. Effect of soybean aging on the quality of soymilk, firmness of tofu and optimum coagulant concentration. *Food Chemistry*, v. 190, p. 90–96, jan. 2016.
- KASHIWAGI, T; YOKOYAMA, K; ISHIKAWA, K; ONO, K; EJIMA, D; MATSUI, H; SUZUKI, E; (2002) Crystal structure of microbial transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *J Biol Chem* 277:44252–44260
- KIELISZEK, M; MISIEWICZ, A. Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia Microbiol* 59, 241–250 (2014). <https://doi.org/10.1007/s12223-013-0287-x>
- KURAISHI C; YAMAZAKI, K; SUSU, Y. (2001) Transglutaminase: its utilization in the food industry. *Food Rev Int* 17:221–246
- MALISZEWSKI, Eliza. Indústria busca esclarecer os queijos análogos: No caso dos queijos análogos, o leite e a gordura do leite são substituídos. 1. [S. l.]: Agrolink, 24 nov. 2020. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/industria-busca-esclarecer-os-queijos-analogos_442807.html. Acesso em: 15 maio 2023.
- MAFALDO, Irla Meireles. DESENVOLVIMENTO DE “QUEIJO VEGETAL” CREMOSO PROBIÓTICO A BASE DE AMENDOIM (*Arachis hypogaea*). 2019. 57 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.
- MATTAR, Rejjane; MAZO, Daniel Ferraz de Campos. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular: Lactose intolerance: changing paradigms due to molecular biology. In: MATTAR, Rejjane; MAZO, Daniel Ferraz de Campos. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular: Lactose intolerance: changing paradigms due to molecular biology. [S. l.]: Scielo, 16 dez. 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/LzYNt4zJkPy4rMznytZrWm>. Acesso em: 20 set. 2022.
- MIN, S. et al. Effect of Soybean Varieties and Growing Locations on the Flavor of Soymilk. *Journal of Food Science*, v. 70, n. 1, p. C1–C11, jan. 2005.

- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO (Brasil). MAPA.PORTARIA Nº 146, DE 07 de março de 1996, São Paulo, 11 mar. 1996. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-mapa-146-de-07-03-1996,669.html>. Acesso em: 9 dez. 2020
- MOTOKI, M; SEGURO, K. (1998) Transglutaminase and its use for food processing. Trends Food Sci Tech 9:204–210
- MOUTA DE OLIVEIRA, L. O AMENDOIM E SEUS BENEFÍCIOS, 2014. Disponível em: <http://www.unirio.br/ccbs/nutricao/ppgan_pt/acoes-ppgan/alimentacao-e-saude/palestras/2014/o-amendoim-e-seus-beneficios>. Acesso em: 10 maio. 2023.
- ODEDRA, Katy Mara. Milk allergy in adults and children. Nursing Standard, [S.L.], v. 29, n. 44, p. 43-48, jul. 2015. RCN Publishing Ltd.. <http://dx.doi.org/10.7748/ns.29.44.43.e9729>. Disponível em: <https://www.proquest.com/openview/6a3242fa872d52c73b4597974b9c6e54/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2042228>. Acesso em: 15 maio 2023.
- OLIVEIRA, T. K. B. DE et al. Composição físico-química e compostos bioativos do extrato aquoso de amendoim sem pele e enriquecido com pele. Brazilian Journal of Food Technology, v. 24, 2021.
- OLIVEIRA, Thárcia Kiara Beserra de et al. Composição físico-química e compostos bioativos do extrato aquoso de amendoim sem pele e enriquecido com pele: physical chemical composition and bioactive compounds of aqueous extract of peanuts without skin and enriched with peanut skin. Brazilian Journal Of Food Technology, Campinas, v. 24, n. -, p. 1-8, 2021. Semanal. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.16620>.
- OMAFUVBE, B. O.; SHONUKAN, O. O.; ABIOSE, S. H. Microbiological and biochemical changes in the traditional fermentation of soybean for “soy-daddawa” — Nigerian food condiment. Food Microbiology, v. 17, n. 5, p. 469–474, out. 2000.
- OZER B, KIRMACI HA, OZTEKIN S, HAYALOGLU A, ATAMER M (2007) Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. Int Dairy J 17:199–20
- PAULA, Junio César Jacinto de; CARVALHO, Antônio Fernandes de; FURTADO, Mauro Mansur. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga.. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, [S.l.], v. 64, n. 367, p. 19-25, dez. 2013. ISSN 2238-6416. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/76/82>>. Acesso em: 10 maio 2023.
- PRETTI, T. [UNESP. Tecnologia para produção de extrato aquoso de amendoim e elaboração de produto fermentado. Aleph, p. 70 f. :, 24 jun. 2010.
- PRETTI, Taciana. Tecnologia para produção de extrato aquoso de amendoim e elaboração de produto fermentado. 2010. 70 f. Dissertação (mestrado) -

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/88338>>.

- RODRIGUES, C. et al. MAXIMIZAÇÃO DA ETAPA DE MACERAÇÃO NO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA / MAXIMIZATION OF MACERATION STEP OF OBTAINING WATER-SOLUBLE SOY EXTRACT PROCESS. v. 7, n. 3, p. 28197–28215, 1 jan. 2021.
- RUBICO, S.M.; RESURRECCION, A.V.A.; BEUCHAT, L.R. Evaluating the sensory properties and headspace volatiles of peanut beverage using univariate and multivariate data analysis. *Journal of Food Science*, Chicago, v.53, p.776-180, 1988.
- SALFINGER, Yvonne; TORTORELLO, Mary Lou (ed.). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 5. ed. Eua: Apha Press, 2015. 995 p.
- SANTOS, M.A. dos; NICOLAS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.1, p.67-75, 2006.
- SHARMA, Poorva; SHARMA, Deepansh; AMIN, Awzia. Development of a functional fermented peanut-based cheese analog using probiotic bacteria. *Biotechnologia*, [S.L.], v. 99, n. 4, p. 435-441, 2018. Termedia Sp. z.o.o.. <http://dx.doi.org/10.5114/bta.2018.79973>.
- SILVA, Neusely da et al. *MANUAL DE MÉTODOS DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS E ÁGUA*. 5. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2017. 535 p.
- SILVESTRO, A. C. Influência da transglutaminase no rendimento de queijo de coalho. repositorio.utfpr.edu.br, 2019.
- USDA. United states department of agriculture. Oilseeds (2017): World Markets and trade. Foreign Agricultural Service. February. Disponível em:< <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf> >
- SOUZA, Gabriela Pereira de; VIEIRA, Thaís Aparecida Pestana. TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA COMO AGENTE TECNOLÓGICO EM TOFUS REVESTIDOS COM COBERTURAS COMESTIVÉIS ADICIONADAS DE PROBIÓTICOS. 2019. 27 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Tecnologia de Marília, Marília, 2019.
- VERDUCI, Elvira; ZUCCOTTI, Gian Vincenzo; PERONI, Diego G.. New Insights in Cow's Milk and Allergy: is the gut microbiota the missing link?. *Nutrients*, [S.L.], v. 14, n. 8, p. 1631, 14 abr. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu14081631>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/8/1631/htm>. Acesso em: 15 maio 2023.
- WEI, G. et al. Microbiology, flavor formation, and bioactivity of fermented soybean curd (furu): A review. v. 163, p. 112183–112183, 1 nov. 2022

