

**Produção e caracterização de Tempeh
de Feijão Tarreste**
***Production and characterization of
Tarreste Bean Tempeh***

Maria Torres Barroso

ORIENTADO POR: PROF. DOUTOR DUARTE PAULO MARTINS TORRES
COORIENTADO POR: DR. PEDRO FERREIRA MEIRINHOS

TRABALHO DE INVESTIGAÇÃO
1.º CICLO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO | UNIDADE CURRICULAR ESTÁGIO
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DA UNIVERSIDADE DO PORTO

TC

PORTO, 2021



Resumo

Introdução: O tempeh, alimento compacto e de cor branca, resulta da fermentação, com o fungo *Rhizopus oligosporus* (RO), de feijões de soja (FS), amendoins, aveia, grão de bico, entre outros. O feijão Tarreste (FT) pode originar tempeh, constituindo uma alternativa alimentar nacional ao consumo de leguminosas (L).

Objetivos: Estudo da associação entre o tempo de cozedura (TC) dos FS e FT e a sua dureza. Desenvolvimento de tempeh de FT e avaliação do seu comportamento ao longo das etapas de produção.

Metodologia: Mediu-se as variáveis humidade (H), atividade de água (aw) e pH, antes e após a fermentação. Mediu-se os parâmetros de textura (T) do tempeh final e a dureza dos FS e FT. Avaliou-se a associação entre as diferentes variáveis em estudo e comparou-se os resultados entre as duas L, considerou-se com significado estatístico quando $p < 0,05$.

Resultados: Verificou-se que a dureza das L tem tendência a diminuir com o aumento do TC, sendo este efeito mais pronunciado no FS. O tempo de fermentação do tempeh é significativamente superior quanto menor for a aw antes. A adesividade do tempeh é significativamente superior quanto menor for a aw. A sua elasticidade é significativamente maior quanto menor for a dureza.

Conclusões: Existe um decréscimo da dureza à medida que o TC dos feijões aumenta. O bom desenvolvimento do RO depende da utilização de valores ótimos de aw, H e pH que devem ser controlados, assim como a T, na produção de tempeh, para obter um produto final seguro e de qualidade.

Palavras-Chave: Feijão Tarreste; Fermentação; Leguminosas; *Rizopus Oligosporus*; Tempeh.

Abstract

Introduction: Tempeh is a white and compact food that results from a fermentation, with *Rhizopus oligosporus* (RO), of soy beans (SB), peanuts, oats, chickpea, and others. The Tarreste bean (TB) may originate tempeh, being this a national food alternative to the consumption of pulses (P).

Objectives: Study of the association between the cooking time (CT) of SB and TB and their hardness. Development of FB tempeh and evaluation of its behavior throughout the production stages.

Metodologia: The variables humidity (H), water activity (wa) and pH were measured before and after fermentation. The texture (T) parameters of the final tempeh and the hardness of the SB and TB were measured. The association between the different variables under study was evaluated and the results were compared between the two P. The results were considered statistically significant at $p < 0,05$.

Results: It was found that hardness tends to decrease with increasing CT, in both P, being this effect more highlighted in the SB. Tempeh fermentation time is significantly superior the lesser the aw before. Adhesiveness is significantly superior the lesser the aw. Elasticity is significantly higher the lesser the hardness.

Conclusions: There is a decrease in hardness as the CT of beans increases. The good development of RO depends on the use of optimal values of wa, H and pH, which must be controlled, as well as T, in the production of tempeh, in order to obtain a safe and quality final product.

Keywords: Tarreste Bean; Fermentation; Pulses; *Rizopus Oligosporus*; Tempeh.

Lista de abreviaturas e símbolos

aw - Atividade de água

DGS - Direção Geral da Saúde

FS - Feijão de Soja

FT - Feijão Tarreste

H - Humidade

L - Leguminosas

$\bar{x}$ - Média

min - Minutos

dp - Desvio padrão

QV - Quantidade de vinagre

RAP - Roda dos Alimentos Portuguesa

RO - *Rizopus oligosporus*

T - Textura

TF - Tempo de fermentação

Índice

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de abreviaturas e símbolos.....	iii
Introdução.....	1
Metodologia	4
Resultados.....	8
Discussão	11
Conclusões	14
Referências	16

Índice de Figuras

Figura 1 Evolução da dureza em função do tempo de cozedura dos FS e FT.....	8
Figura 2 Aspeto e dimensões do tempeh de FS	11

Índice de Tabelas

Tabela 1 Caraterização das amostras de FS e FT e respetivo tempeh final ($\bar{x} \pm dp$)	9
Tabela 2 Parâmetros de textura das amostras de tempeh de FS e FT ($\bar{x} \pm dp$) ..	10

Introdução

O consumo de produtos alimentares fermentados tem aumentado nos últimos anos. Fazem parte desta categoria todos “os alimentos ou bebidas que resultam da ação de microrganismos que crescem em ambiente controlado, assim como da ação de enzimas que alteram componentes alimentares”⁽¹⁾. A fermentação, conforme o método utilizado, pode ser de dois tipos: fermentação natural, provocada pelos microrganismos presentes naturalmente no alimento cru; ou fermentação resultante da adição de culturas iniciais (“*starter*”)⁽¹⁾. O crescimento do interesse por alimentos fermentados deve-se, em parte, ao impacto que parecem ter na redução da incidência de diabetes tipo 2, doenças cardíacas e síndrome metabólica, além de permitirem um melhor controlo de peso e da saúde intestinal⁽²⁾. Contudo, estes resultados são provenientes de experiências *in vitro*, sendo, por isso, necessários estudos em humanos para perceber os efeitos que o seu consumo terá na nossa saúde⁽³⁾. Os efeitos positivos resultam da presença, nestes produtos, de microrganismos com características probióticas, de metabolitos resultantes da fermentação e de constituintes como prebióticos e vitaminas, juntamente com a diminuição, aquando a fermentação, de toxinas e anti-nutrientes⁽¹⁾. Além da melhoria do valor nutricional e das características organoléticas dos alimentos (sabor, aroma e textura), a fermentação, ao aumentar a vida útil dos alimentos, é, também, um bom método de preservação dos mesmos^(4, 5).

Para a elaboração deste trabalho de investigação, escolheu-se estudar a produção de um alimento fermentado, o tempeh. O tempeh é um alimento, compacto e de cor branca, que resulta da fermentação de feijões de soja (FS) cozidos, com um fungo *Rhizopus spp*⁽⁶⁾. Apesar de ser mais comum usar-se a

fermentação de FS para a sua produção, podem também ser usadas outras matéria-prima como amendoins, aveia, grão de bico, feijão, entre outros⁽⁷⁾. *Rhizopus* é um género de fungo, utilizado na produção de alimentos e bebidas fermentadas, presente em substâncias de origem vegetal mortas e em decomposição⁽⁸⁾. Das diversas espécies deste fungo, o *R. oligosporus* (RO) parece ser o mais indicado para a produção de tempeh, dando origem a um produto final mais aceitável em termos de sabor, textura (T), aspeto, cor e odor⁽⁹⁾. A sua fermentação com *Rhizopus spp* conduz a um aumento do conteúdo em proteína e gordura, que, associado a uma diminuição do teor em hidratos de carbono, fibra bruta e amido total, conduz a uma melhor digestibilidade⁽⁹⁾. Além disso, aumenta a biodisponibilidade de vitaminas e minerais, resultado da diminuição do teor de fitatos durante a fermentação^(7, 9). Por fim, o tempo de fermentação é menor, assim como a produção de ácidos gordos livres e amónia, com as estirpes RO e *R. oryzae*, em comparação com outras espécies, conduzindo a um tempeh com odor menos intenso^(9, 10). O tempeh tem origem na Indonésia, sendo referido, pela primeira vez, em 1600, numa receita do “Serat Centhini”, um livro de lendas, tradições e ensinamentos japoneses⁽⁷⁾. Ao longo dos anos, até aos dias de hoje, o seu consumo foi-se disseminando pelo Mundo, começando a surgir iniciativas ao consumo de tempeh. Em 2015, surge o “Indonesian Tempe Movement” através do qual se defende o tempeh como um alimento nutritivo, sustentável e barato⁽¹¹⁾.

Além de ser um alimento fermentado, o tempeh poderá também constituir uma boa fonte de leguminosas (L) na alimentação. Este ponto é fulcral, uma vez que, em Portugal, o consumo de L não vai de encontro ao recomendado pela Roda dos Alimentos Portuguesa (RAP), onde este grupo de alimentos ocupa 4% do valor energético total diário, o que corresponde a 1 a 2 porções de L por dia⁽¹²⁾. Neste

sentido, de acordo com o Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física 2015-2016, os portugueses consumiam apenas 1% da recomendação da RAP, correspondendo a uma média de consumo nacional de 18 g/dia de L⁽¹³⁾. Por fim, tendo em vista dados mais recentes (2020), do “Estudo de Adesão ao Padrão Alimentar Mediterrânico” realizado pela Direção Geral da Saúde (DGS), verifica-se uma inadequação do consumo de L, sendo que apenas 31% da população portuguesa consome L 3 ou mais vezes por semana, tendo sido apresentadas como barreiras ao consumo destes alimentos: “o não gostar do sabor”; a perceção que a sua ingestão aumenta o peso; a dificuldade em saber cozinhá-los, de forma a tornar as refeições mais saborosas; e o facto de os familiares, ou as pessoas com quem partilham as refeições, não gostarem de L⁽¹⁴⁾. A Assembleia Geral das Nações Unidas, considerando a importância que têm vindo a apresentar ao longo dos últimos anos, declara 2016 como o ano internacional das L⁽¹⁵⁾. Neste sentido, destaca-se que as L são excelentes fontes de proteína vegetal; hidratos de carbono complexos, como o amido; fibras, importantes para a promoção do controlo da saciedade; vitaminas do complexo B e minerais como ferro, zinco, magnésio, potássio e fósforo^(15, 16). Contudo, é importante a combinação de L, ricas em lisina, com cereais ou outras L, de forma a compensar o défice em aminoácidos limitantes, como a metionina e o triptofano, que apresentam. Este grupo de alimentos é composto por uma quantidade reduzida de gordura e não contém colesterol⁽¹⁵⁾. No que diz respeito a substâncias bioativas, as L são fornecedoras de compostos fenólicos, flavonóides, isoflavonas e outros antioxidantes⁽¹⁵⁾. O consumo de L parece contribuir para a prevenção de doenças crónicas como diabetes, doenças coronárias e cancro e para o combate à malnutrição (obesidade e desnutrição)⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Além disso, são alimentos de baixo custo de cultivo e elevado

tempo de prateleira, o que permite o seu consumo a nível global, contribuindo para o aumento da segurança alimentar das populações⁽¹⁵⁾. Assim, este grupo de alimentos deve fazer parte de um padrão alimentar saudável, sendo essencial o incentivo ao seu consumo. Além do impacto positivo na saúde humana, as L são fontes sustentáveis, uma vez que, através da capacidade de fixação do azoto atmosférico - o que permite a redução do uso de fertilizantes químicos, diminuindo a emissão de gases com efeito de estufa - contribuem para a fertilidade dos solos e consequente aumento da biodiversidade e para o combate às alterações climáticas. Ademais, na produção de L há um menor consumo de água, comparativamente a outras fontes proteicas, visto que, estas apresentam raízes profundas e desenvolvem-se em terrenos áridos. Nesse sentido, o consumo de L vai de encontro a 6 dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) definidos pela Organização das Nações Unidas (ONU) em 2015 ^(15, 20, 21).

O objetivo do seguinte trabalho de investigação é o desenvolvimento de tempeh de feijão Tarreste (FT), uma cultivar de feijão nacional, proveniente das Serras da Peneda e Soajo⁽²²⁾, através da avaliação do seu comportamento ao longo das etapas de produção. Pretendeu-se ainda estudar a associação entre o tempo de cozedura dos FS e FT e a sua dureza.

Metodologia

Este trabalho de investigação teve a duração de 3 meses e meio, sendo desenvolvido entre os dias 15 de março e 26 de junho do ano de 2021.

Matéria-prima e inóculo:

Usou-se como matéria-prima para a produção do tempeh, FS (*Glycine Max*) da marca Próvida® e FT comprado à Cooperativa Agrícola de Arcos de Valdevez e

Ponte da Barca, CRL. Quanto ao inóculo, o *R.olygosporus* foi adquirido através do website www.topcultures.com.

Estudo da influência do tempo de cozedura do FS e FT na sua dureza:

Procedeu-se à cozedura de 40 g de FS com 930 mL de água em 5 tempos diferentes: 10; 15; 20; 22,5 e 25 min. Quanto ao FT, utilizou-se a mesma quantidade e os seguintes tempos de cozedura: 10; 15; 20 e 30 min. Após a cozedura, a dureza de um dos cotilédones de cada feijão, foi medida, depois de retirada a casca e separados os cotilédones. Utilizou-se o texturómetro *TA.XTplus Texture Analyser*, equipado com uma célula de carga máxima de 30 kg e uma sonda cilíndrica de alumínio com 70 mm de diâmetro e 10 mm de altura, definindo-se uma deformação de 80% e velocidade de 2 mm/s.

Produção de Tempeh de FT:

Demolha. Pesou-se 250 g de feijão numa balança digital de cozinha Selecline 845650® e demolhou-se com água até cobrir os grãos. Deixou-se os feijões, à temperatura ambiente, em água durante 12 a 20 horas. *Descascamento.* Antes da cozedura, descascou-se, manualmente, o FS. Esta etapa não foi necessária no caso do FT. *Cozedura.* Pesou-se os feijões e cozeu-se, numa panela de pressão, durante 20 min (FS) ou 30 min (FT). Na água de cozedura (2,8 L) adicionou-se 100 mL de vinagre de sidra, de forma a acidificar o meio. *Secagem.* Depois da cozedura, deixou-se secar os feijões à temperatura ambiente, para diminuir a humidade (H). *Determinação da humidade.* A H foi determinada com recurso a uma Balança de Humidade VWR®, utilizando-se cerca de 2,500 g de amostra a 105°C, até peso constante. Para cada amostra, fez-se 2 a 3 medições. *Medição da atividade de água (aw).* A aw foi medida recorrendo ao equipamento LabSwift aw®, efetuando-se a média aritmética de 3 medições. *Medição do pH.* Adaptou-se o método

proposto por Sparringa et al.(1999)⁽²³⁾. Para tal, preparou-se um homogeneizado contendo 38 g de feijão cozido em 150 mL de água desionizada (condutividade <0,13 μ S), com recurso a uma varinha mágica. Fez-se 1 medição de pH para cada amostra com um eletrodo de pH, previamente calibrado, ligado a um pH Meter® modelo 3505. *Inoculação.* Esta etapa só foi possível após a obtenção de resultados próximos dos valores de 60% de H e entre 0,99 e 1,00 de aw, por serem as condições ótimas de fermentação, de acordo com estudos publicados previamente⁽⁷⁾. Para a inoculação, escolheu-se utilizar o fungo RO na proporção 0,5 g inóculo por 100 g feijão, assemelhando-se à quantidade reportada por Erkan et al.(2020)⁽²⁴⁾. O inóculo foi pesado numa Balança digital Kern ALS 120-4®. *Embalamento.* Recorreu-se a sacos de plástico, previamente furados com um palito, colocando-se cerca de metade da amostra em cada saco que depois foi selado. O conteúdo foi espalhado de forma homogênea por todo o saco, evitando espaços livres, de forma a garantir um crescimento uniforme do fungo. *Incubação.* Os sacos foram incubados numa estufa TITANOX® a 34°C, pelo tempo necessário até se obter uma amostra de tempeh em que se verifique o feijão bem incorporado na superfície branca resultante do crescimento do fungo. Após a obtenção do produto final, procedeu-se à medição da H, da aw e do pH, de forma semelhante à efetuada com os feijões cozidos. *Determinação do perfil de textura do produto final.* O perfil de textura do produto final foi determinado recorrendo ao mesmo texturómetro, o TA.XTplus Texture Analyser, equipado com uma célula de carga máxima de 30 kg e uma sonda cilíndrica de alumínio com 70 mm de diâmetro e 10 mm de altura, definindo-se uma deformação de 75% e velocidade de 2 mm/s. O ensaio para a determinação do perfil de textura consiste em duas compressões sucessivas da amostra (o tempeh foi cortado em cubos de 2x2x2 cm), tentando-se simular o processo de mastigação.

Através do gráfico da força medida em função do tempo obteve-se parâmetros que caracterizam a textura da amostra, tal como dureza (g) e adesividade (g.sec), obtidos diretamente, e elasticidade (adimensional), coesividade (adimensional), gomicidade (g), mastigabilidade (g) e resiliência (adimensional), calculadas de acordo com o manual do texturómetro⁽²⁵⁾. *Reportagem fotográfica*. Ao longo de todo o processo de produção, foram tiradas fotografias, de forma a conseguir um melhor controlo do aspeto da amostra, parâmetro que se tornou essencial na definição do final da fermentação.

Tratamento estatístico dos resultados:

Recorreu-se ao *Microsoft Excel*, versão 2102, para deteção e exclusão de valores atípicos, através do teste de *Sprent*, e posterior cálculo das médias ($\bar{x}$) e desvios padrão (dp). Os gráficos e tabelas foram, também, criados nesta ferramenta. O restante tratamento estatístico dos resultados foi efetuado no programa *SPSS® Statistics (IBM®)*, versão 26. Recorreu-se ao teste estatístico ANOVA One way, para comparar a dureza dos FS e FT entre os diferentes tempos de cozedura dos feijões. Assumiu-se que todas as variáveis, exceto a variável “quantidade de vinagre”(QV), seguem uma distribuição próxima da distribuição normal. Para perceber se havia diferenças entre as variáveis antes e após a fermentação, utilizou-se o teste t-student para amostras emparelhadas. Usou-se a correlação de Pearson para estudar a associação entre as diferentes variáveis cardinais normais e a correlação de Spearman no caso das associações com a variável QV, classificada como ordinal. A força de cada correlação foi classificada em: muito fraca ($|R$ ou $\rho \in [0;0,25[$); fraca ($|R$ ou $\rho \in [0,25;0,5[$); moderada ($|R$ ou $\rho \in [0,5;0,75[$); forte ($|R$ ou $\rho \in [0,75;0,9[$); ou muito forte ($|R$ ou $\rho \in [0,9;1[$).

Além disso, usou-se o teste t-student para amostras independentes, para comparar as variáveis em estudo entre as duas L. Os resultados foram considerados como significativos sempre que o nível de significância crítico (p) fosse $<0,05$.

Resultados

Os resultados do estudo da relação da dureza em função do tempo de cozedura dos FS e FT, são apresentados na figura 1. Da observação da figura, conclui-se que, em ambos os tipos de L, a dureza tem tendência a diminuir, de forma não linear, com o aumento do tempo de cozedura dos feijões. Não se verificou diferença significativa na dureza do FS entre o 10 e 15 min de cozedura e o 22,5 e 25 min ($p>0,05$). Verificou-se, uma diferença, com significado estatístico, nos valores de dureza do FT entre os min 10 e 30 ($p=0,020$). Além disso, as durezas do FT ao min 15 e do FS ao min 20, são significativamente inferiores aos restantes valores médios ($p<0,05$). Por fim, o tempo de cozedura, entre o 10 e 30 min, parece ter um maior efeito na dureza do FS do que do FT, observando-se uma diminuição acentuada nos 2 últimos valores de dureza do FS.

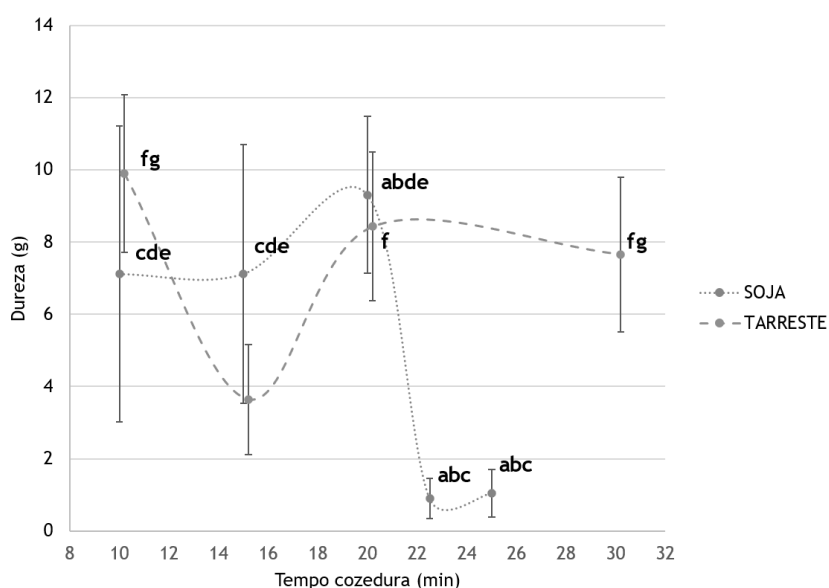


Figura 1 Evolução da dureza em função do tempo de cozedura dos FS e FT

- a - diferenças estatisticamente significativas relativamente ao 10 min no FS
- b - diferenças estatisticamente significativas relativamente ao 15 min no FS

c - diferenças estatisticamente significativas relativamente ao 20 min no FS
 d - diferenças estatisticamente significativas relativamente ao 22,5 min no FS
 e - diferenças estatisticamente significativas relativamente ao 25 min no FS
 f - diferenças estatisticamente significativas relativamente ao 15 min no FT
 g - diferenças estatisticamente significativas entre os 10 e 30 min no FT

No gráfico, acrescentou-se 0,2 min nos tempos de cozedura do FT, de forma a se conseguir uma melhor distinção dos resultados entre as 2 leguminosas.

Para a monitorização da produção de tempeh de FT, foram feitas 15 experiências, contudo, por insuficiência de dados de algumas variáveis em estudo, foram excluídas as primeiras 4. Assim, analisaram-se os resultados de 11 amostras, 9 de FS e 2 de FT. Na tabela 1 é possível observar os resultados obtidos nas determinações da H, aw e pH antes e após a fermentação de cada amostra. É também apresentada a quantidade de vinagre adicionada à água de cozedura, o peso do feijão e do inóculo usado e tempo de fermentação (TF) de cada amostra.

Tabela 1 Caracterização das amostras de FS e FT e respetivo tempeh final ($\bar{x} \pm dp$)

Amostra	H antes	aw antes	pH antes	Vinagre (ml)	Peso feijão (g)	Peso inóculo (g)	TF (h)	H após	aw após	pH após
F_1	0,60 $\pm$ 0,01	0,914 $\pm$ 0,055 ^a	N.D.	5,0	460,0	2,3175	170,0 ^a	0,68 $\pm$ 0,00	0,972 $\pm$ 0,002 ^b	N.D.
F_2	0,60 $\pm$ 0,00	0,859 $\pm$ 0,000 ^a	N.D.	5,0	445,0	2,2257	170,0 ^a	0,60 $\pm$ 0,03	0,971 $\pm$ 0,003 ^b	N.D.
F_3	0,58 $\pm$ 0,01	0,808 $\pm$ 0,008 ^a	N.D.	5,0	445,0	2,2323	146,0 ^a	N.D.	N.D.	N.D.
F_4	0,57 $\pm$ 0,03	0,980 $\pm$ 0,003 ^a	N.D.	5,0	409,0	2,0579	50,0 ^a	N.D.	N.D.	N.D.
F_5	0,56 $\pm$ 0,01	0,980 $\pm$ 0,001 ^a	N.D.	5,0	396,0	4,0390	50,0 ^a	0,60 $\pm$ 0,04	0,972 $\pm$ 0,006 ^b	5,98
F_6	0,63 $\pm$ 0,02	0,982 $\pm$ 0,001 ^a	6,96	50,0	352,0	1,7867	46,5 ^a	N.D.	N.D.	N.D.
F_7	0,57 $\pm$ 0,01	0,980 $\pm$ 0,001 ^a	6,28	50,0	432,0	2,1724	42,0 ^a	0,60 $\pm$ 0,01	0,968 $\pm$ 0,004 ^b	6,06
F_8	0,55 $\pm$ 0,01	0,978 $\pm$ 0,001 ^a	5,83	100,0	383,0	1,9658	30,0 ^a	0,56 $\pm$ 0,03	0,964 $\pm$ 0,002 ^b	6,07
F_9	0,56 $\pm$ 0,01	0,982 $\pm$ 0,004 ^a	5,78	100,0	417,0	2,0860	27,0 ^a	0,57 $\pm$ 0,02	0,964 $\pm$ 0,001 ^b	5,83
F_10	0,57 $\pm$ 0,01	0,980 $\pm$ 0,002 ^a	5,82	100,0	403,0	2,0694	47,0 ^a	0,60 $\pm$ 0,01	0,976 $\pm$ 0,002 ^b	5,93
F_11	0,61 $\pm$ 0,02	0,977 $\pm$ 0,003 ^a	5,27	100,0	454,0	2,2705	40,0 ^a	0,62 $\pm$ 0,00	0,964 $\pm$ 0,004 ^b	5,86

As amostras F_1 a F_9 correspondem a tempeh de FS e as amostras F_10 e F_11 são tempeh de FT

N.D. - Não Definido

a - as variáveis aw antes da fermentação e tempo de fermentação (TF) apresentaram significado estatístico

b - as variáveis aw após a fermentação e elasticidade (tabela 2) apresentaram significado estatístico

Avaliou-se os parâmetros de T das amostras F_1; F_2; F_5; e F_7 a F_11 (figura 2).

Através da análise dos valores da tabela 1, conclui-se que há um aumento do pH com a fermentação, exceto na amostra F_7. Contudo, não existem diferenças significativas entre as variáveis pH antes e pH após ($p=0,309$). A H após a fermentação é significativamente superior à H antes ($p=0,031$). Quanto à aw,

verifica-se um comportamento oposto, ou seja, com a fermentação há uma diminuição da a_w na maioria das amostras, porém, esta diferença não tem significado estatístico ($p=0,434$). Não se verificaram diferenças significativas, entre as duas L, nos valores das variáveis antes e após a fermentação ($p>0,05$). Por fim, na amostra F_5, com o dobro da quantidade de inóculo, os resultados das variáveis após a fermentação não são diferentes das restantes amostras.

Tabela 2 Parâmetros de textura das amostras de tempeh de FS e FT ($\bar{x} \pm dp$)

Amostra	Dureza (g)	Adesividade (g.sec)	Elasticidade	Coesividade	Gomicidade (g)	Mastigabilidade (g)	Resiliência
F_1	2166 $\pm$ 819 ^c	- 50,3 $\pm$ 14,6 ^b	0,569 $\pm$ 0,070 ^c	0,269 $\pm$ 0,028	565 $\pm$ 71	320 $\pm$ 56	0,098 $\pm$ 0,015
F_2	10192 $\pm$ 2717 ^c	- 45,9 $\pm$ 20,8 ^b	0,321 $\pm$ 0,083 ^c	0,204 $\pm$ 0,047	1813 $\pm$ 594	614 $\pm$ 205	0,107 $\pm$ 0,034
F_5	10460 $\pm$ 1837 ^c	- 60,7 $\pm$ 26,0 ^b	0,324 $\pm$ 0,044 ^c	0,183 $\pm$ 0,022	1890 $\pm$ 411	583 $\pm$ 135	0,085 $\pm$ 0,020
F_7	4743 $\pm$ 1796 ^c	- 38,4 $\pm$ 19,4 ^b	0,504 $\pm$ 0,059 ^c	0,245 $\pm$ 0,040	1195 $\pm$ 552	610 $\pm$ 299	0,103 $\pm$ 0,022
F_8	5011 $\pm$ 1264 ^c	- 6,1 $\pm$ 3,0 ^b	0,417 $\pm$ 0,049 ^c	0,248 $\pm$ 0,039	1238 $\pm$ 333	523 $\pm$ 159	0,105 $\pm$ 0,018
F_9	5497 $\pm$ 2513 ^c	- 28,7 $\pm$ 15,6 ^b	0,438 $\pm$ 0,080 ^c	0,205 $\pm$ 0,036	1151 $\pm$ 610	491 $\pm$ 265	0,092 $\pm$ 0,022
F_10	8407 $\pm$ 1431 ^c	- 121,3 $\pm$ 31,6 ^b	0,371 $\pm$ 0,086 ^c	0,228 $\pm$ 0,027	2021 $\pm$ 655	745 $\pm$ 265	0,088 $\pm$ 0,014
F_11	6897 $\pm$ 2029 ^c	- 45,1 $\pm$ 9,5 ^b	0,379 $\pm$ 0,055 ^c	0,289 $\pm$ 0,037	1942 $\pm$ 406	723 $\pm$ 117	0,117 $\pm$ 0,014

As amostras F_1 a F_9 correspondem a tempeh de FS e as amostras F_10 e F_11 são tempeh de FT

b - as variáveis a_w após a fermentação (tabela 1) e elasticidade apresentaram significado estatístico

Verificou-se uma associação forte, com significado estatístico, entre a a_w antes e o TF, sendo que quanto maior a a_w dos feijões, menor será o tempo necessário à fermentação de tempeh ($R=-0,870$, $p=0,001$). A a_w após correlaciona-se, de forma negativa e com significado estatístico, com a adesividade, sendo que esta associação é forte ($R=-0,838$, $p=0,009$). Embora não tenha significado estatístico, obteve-se uma associação forte entre o pH antes e a elasticidade ($R=-0,792$, $p=0,110$), sendo que quanto maior o pH antes, menor será o valor da elasticidade. Entre as variáveis de T, dureza e elasticidade, obteve-se uma associação muito forte com significado estatístico e cujo valor negativo indica que quanto maior a dureza menor será a elasticidade ($R=-0,949$, $p<0,010$). Para as restantes associações não foi encontrado significado estatístico ($p>0,05$).

Seguindo o procedimento experimental apresentando neste trabalho, obteve-se um produto final com dimensões 12 x 20 x 2 cm e um peso de cerca de 225 g. Um tempeh de cor branca e com distribuição homogênea do micélio por todo o feijão é o pretendido (figura 2).

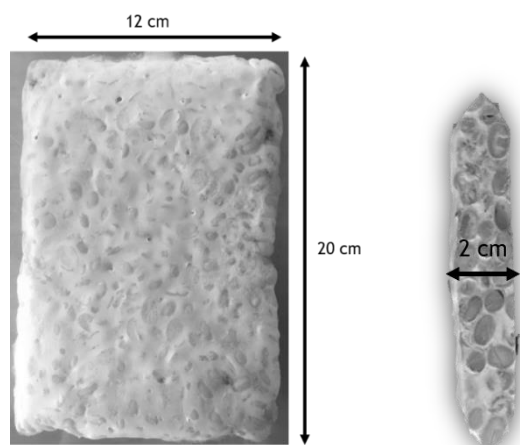


Figura 2 Aspeto e dimensões do tempeh de FS

Discussão

O tempeh é um alimento que resulta da fermentação da sua matéria-prima por um fungo do género *Rhizopus* spp⁽⁶⁾.

Como todos os processos de produção de alimentos, a fermentação também constitui um desafio, na medida em que todas as variáveis que estejam interligadas com o desenvolvimento do produto final têm de ser bem monitorizadas, de forma a garantir, não só a reprodutibilidade de todo o processo, como também um alimento seguro e de qualidade para o consumidor. Assim, neste trabalho experimental, estudou-se a *H*, a *aw*, o pH e a textura.

Através do estudo da relação entre o tempo de cozedura e a dureza dos feijões, percebeu-se que esta variável tem tendência a decrescer à medida que aumenta o tempo de cozedura. O tempo de cozedura usado para a produção de tempeh foi diferente nas duas L, 20 min (FS) e 30 min (FT), devido ao facto do FS ter apresentado uma maior variação da dureza com o tempo de cozedura e uma

acentuada diminuição da mesma no 22,5 e 25 min. Por fim, existe a possibilidade de ocorrência de erros experimentais que possam justificar o comportamento inesperado dos FS e FT no 20 e 15 min, respetivamente. Nesse sentido, seriam precisos mais estudos, de forma a melhor estabelecer a relação entre o tempo de cozedura e a dureza dos FS e FT.

O pH ácido antes da fermentação do tempeh resulta da fermentação láctea que ocorre durante a demolha dos feijões, constituindo um processo importante na inativação do crescimento de potenciais microrganismos patogénicos, garantindo, assim, a segurança alimentar do produto final⁽²⁶⁾. Durante a fermentação, tal como verificado nos resultados obtidos, ocorre um aumento do pH, que pode chegar a valores superiores a 7, resultado da produção de amónia durante a atividade metabólica do fungo⁽²⁶⁾. Quanto à H, o seu ligeiro aumento com a fermentação (0,02), resulta, provavelmente, do metabolismo do RO⁽²⁶⁾. Observou-se que o controlo desta variável é imprescindível para um bom desenvolvimento do fungo, e que o seu valor não deve ser muito elevado, de forma a evitar o crescimento de microrganismos indesejados⁽²⁶⁾. A aw refere-se à água disponível para o crescimento de microrganismos e para a ocorrência de reações de detioração dos alimentos⁽²⁷⁾. Assim, o desenvolvimento de microrganismos pode ocorrer no intervalo de 0,60 a 0,99 de aw, sendo que o valor ótimo situa-se entre 0,90 e 0,99⁽²⁸⁾, compreendendo os valores de aw obtidos neste trabalho experimental. Estes resultados indicam que o tempeh tem um tempo de prateleira curto, devido à maior velocidade das reações de oxidação, de escurecimento e microbiológicas resultantes da elevada aw⁽²⁹⁾, e, por isso, necessita de frio para aumentar o seu tempo de conservação. Relativamente à variável TF, a medição desta variável terá uma baixa precisão e exatidão, uma vez que foi obtida através

da observação subjetiva de apenas um investigador. Com isto, tendo em vista que a produção de tempeh é uma fermentação em estado sólido, poder-se-ia optar por métodos mais rigorosos e precisos como é o caso da quantificação da biomassa produzida pelo fungo, estabelecendo o crescimento do *Rhizopus* e, assim, obter de forma objetiva uma medida da extensão da fermentação. Até ao momento, já foram estudados diversos procedimentos indiretos, na tentativa de ultrapassar a dificuldade de utilização de métodos diretos neste contexto, devido à incorporação da biomassa do fungo no material sólido fermentável, ou seja, na L^(30, 31). Estes métodos podem ser divididos em 6 grupos: medição de componentes celulares não presentes no substrato (ex.: glucosamina e ergosterol); medição dos componentes da biomassa presentes no substrato e na biomassa (ex.: conteúdo proteico); medição de metabolitos secundários; medição da atividade metabólica (ex.: consumo de oxigénio e produção de dióxido de carbono); medição de imagens através de observação microscópica direta; e medição da biomassa da matriz sólida⁽³¹⁾. Além destes, ainda que não haja estudos experimentais suficientes, a capacitância⁽³⁰⁾ e a colorimetria, através de UV-visível⁽³²⁾, parecem ser métodos promissores para uma boa estimativa do crescimento do fungo na fermentação em superfícies sólidas. Por fim, mesmo existindo métodos indiretos, na tentativa de colmatar a dificuldade acima referida, estes ainda apresentam algumas desvantagens, tais como a dificuldade de preparação das amostras a analisar e o elevado custo e tempo consumido⁽³¹⁾. Além disso, uma característica comum a todos os métodos é o facto de a relação entre a biomassa e os componentes usados para a aferir não ser constante ao longo do tempo⁽³¹⁾. O método ideal seria a calibração direta da biomassa, contudo, ainda não existe evidência científica nesse sentido⁽³¹⁾. Assim, deve-se optar pelo método mais conveniente no contexto de

cada estudo. Na experiência feita para perceber se a quantidade de inóculo teria impacto nos resultados das restantes variáveis em estudo, como apenas se alterou esta variável numa das amostras, a aparente ausência de efeito pode ter sido consequência da falta de amostragem. Assim, seria benéfico fazer-se mais ensaios laboratoriais no sentido de avaliar melhor se a quantidade de inóculo utilizada terá impacto na fermentação. Esta variável tem especial relevância na produção de tempeh, uma vez que, dela depende o bom crescimento do micélio, garantindo um curto tempo de fermentação, ideal para a produção de uma estrutura em que os feijões estejam incorporados na camada branca produzida pelo fungo e para o não crescimento de outros microrganismos que ponham em causa a segurança do produto final⁽²⁶⁾. Quanto aos parâmetros de T, a relação inversa obtida entre a dureza e a elasticidade deve-se ao facto de a primeira avaliar a firmeza do alimento e a segunda estar relacionada com a altura que o alimento recupera entre o final da primeira mastigação e o início da seguinte⁽³³⁾.

Conclusões

O tempeh, sendo um alimento resultante da fermentação de L, constitui uma boa fonte de proteínas, vitaminas e minerais, que se tornam mais facilmente absorvidas pelo organismo humano aquando a demolha e fermentação necessárias à obtenção do produto final. Assim, através do consumo de tempeh, consegue-se aumentar o consumo de L, grupo alimentar que deve estar presente num padrão alimentar saudável. Além do mais, ao constituir uma fonte rica em proteínas, poderá ser uma boa alternativa à carne, ajudando à redução do seu consumo, permitindo uma dieta mais protetora do ambiente, podendo também ser um alimento a incluir em planos alimentares de veganos.

Na produção de géneros alimentícios, é essencial uma boa monitorização de todas as etapas de processo, para garantir o desenvolvimento de um alimento seguro e de qualidade para o consumo humano. Assim, para a obtenção de um tempeh com as características desejadas é fundamental conhecer-se o inóculo, a matéria-prima e todas as variáveis que poderão pôr em causa o bom crescimento do fungo durante a fermentação. Com este trabalho de investigação, concluiu-se que tanto o FS como o FT apresentam um valor de dureza que tem tendência a diminuir à medida que o tempo de cozedura dos feijões aumenta, notando-se um efeito mais rápido na dureza do FS. Pretendeu-se desenvolver um tempeh de FT, através do conhecimento do seu comportamento ao longo das etapas de produção. Da comparação deste produto como o grupo controlo (tempeh de FS), concluiu-se que apenas existem diferenças significativas entre os valores da variável H antes e após a fermentação. Verificou-se que quanto maior for a a_w antes menor será o TF e que com uma maior a_w após se obtém uma menor adesividade. Por outro lado, quanto maior a dureza do tempeh, menor será a sua elasticidade.

Como limitação deste trabalho destaca-se a incerteza na comparação entre os valores de algumas variáveis devido ao pequeno tamanho amostral. Assim, seria benéfico fazer-se mais ensaios experimentais de forma a melhor estabelecer associações entre as variáveis em estudo.

O estabelecimento do final da fermentação é uma das etapas mais importantes na produção de tempeh sendo, também, das mais desafiantes e, por isso, exige rigor que pode ser melhorado com recurso a um método de quantificação da biomassa formada pelo fungo. Por fim, o estudo da aceitação sensorial e da composição nutricional do produto final serão dois aspetos de interesse em investigação futura.

Referências

1. Dimidi E, Cox SR, Rossi M, Whelan K. Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*. 2019; 11(8)
2. Shiferaw Terefe N, Augustin MA. Fermentation for tailoring the technological and health related functionality of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020; 60(17):2887-913.
3. Gille D, Schmid A, Walther B, Vergères G. Fermented Food and Non-Communicable Chronic Diseases: A Review. *Nutrients*. 2018; 10(4)
4. Reddy N, Pierson MD, Salunkhe K. Legume-Based Fermented Foods. 2018.
5. N. R. Reddy MDP, D. K. Salunkhe. Legume-Based Fermented Foods. 2018.
6. Organização Mundial de Saúde (OMS). Regional Standard For Tempe. 2017.
7. Ahnan-Winarno AD, Cordeiro L, Winarno FG, Gibbons J, Xiao H. Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021
8. Lennartsson PR, Taherzadeh MJ, Edebo L. Rhizopus. In: Batt CA, Tortorello ML, editores. *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). Oxford: Academic Press; 2014. p. 284-90.
9. Tandee K, Nettiya K, Duangchan L, Wunchana J. Selection of Starter Culture for Soybean Tempeh Production. 2020.
10. Sudarmadji S, Markakis P. Lipid and other changes occurring during the fermentation and frying of tempeh. *Food Chemistry*. 1978; 3(3):165-70.
11. Indonesian Tempe Movement. 2015. [citado em: 28/06/2021]. Disponível em: <https://www.tempeovement.com/>.
12. Franchini B, Rodrigues S, Graça P, de Almeida MDV. A nova roda dos alimentos: um guia para a escolha alimentar diária. *Nutricias*. 2004(4):55-66.
13. Lopes C, Torres D, Oliveira A, Severo M, Alarcão V, Guiomar S, et al. Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF 2015-2016: Relatório de resultados. Universidade do Porto, 2017.
14. Gregório MJ, Sousa SM, Chkoniya V, Graça P. Estudo de adesão ao padrão alimentar Mediterrânico. Direção Geral de Saúde (DGS). 2020
15. Associação Portuguesa de Nutrição (APN). Leguminosa a leguminosa, encha o seu prato de saúde. 2016
16. Didinger C, Thompson H. Motivating Pulse-Centric Eating Patterns to Benefit Human and Environmental Well-Being. *Nutrients*. 2020; 12(11)
17. Mudryj AN, Yu N, Aukema HM. Nutritional and health benefits of pulses. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014; 39(11):1197-204.
18. Viguioliouk E, Blanco Mejia S, Kendall CWC, Sievenpiper JL. Can pulses play a role in improving cardiometabolic health? Evidence from systematic reviews and meta-analyses. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2017; 1392(1):43-57.
19. Wendy JD. Health Benefits of Pulses 2019. p. 55-66.
20. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO). About the International Year of Pulses. 2016. [citado em: 25/02/2021]. Disponível em: <http://www.fao.org/pulses-2016/about/en/>.
21. Calles T, del Castello R, Baratelli M, Xipsiti M, Navarro DK. The International Year of Pulses - Final report. Rome. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO). 40 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2019

22. Câmara Municipal de Arcos de Valdevez. Feijão Tarreste. [citado em: 13/07/2021]. Disponível em: <https://www.cmav.pt/pages/1719>
23. Sparringa RA, Owens JD. Causes of alkalization in tempe solid substrate fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*. 1999; 25(8):677-81.
24. Erkan SB, Gürlü HN, Bilgin DG, Germec M, Turhan I. Production and characterization of tempehs from different sources of legume by *Rhizopus oligosporus*. *LWT*. 2020; 119:108880.
25. Stable Micro Systems Ltd, Vienna Court, Lammas Road, Godalming, Surrey, UK. GU7 1YL. 2007
26. Cruz IL. Desenvolvimento de um inóculo seguro, eficiente e padronizado para a produção de tempeh em pequena escala a partir de diferentes leguminosas. 2014. [citado em: 08/07/2021]. 95p. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.5/6799>.
27. Vitalli D. Importância da atividade de água em alimentos. Jardim, DCP - I Seminário sobre Atividade de Água em Alimentos 1987:1-5.
28. Santin AP. Estudo da secagem e da inativação de leveduras: *Saccharomyces cerevisiae*. 1996
29. Barbosa-Cánovas GV, Fernandez-Molina JJ, Alzamora SM, Tapia MS, López-Malo A, Chanes JW. Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO). 2003
30. Davey CL, Peñaloza W, Kell DB, Hedger JN. Real-time monitoring of the accretion of *Rhizopus oligosporus* biomass during the solid-substrate tempe fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1991; 7(2):248-59.
31. Manan M, Webb C. Estimation of growth in solid state fermentation: A review. *Malaysian Journal of Microbiology*. 2018; 14:61-69.
32. Musaalbakri AM, Webb C. Extracted substrate colour as an indicator of fungal growth in solid state fermentation. *Malaysian Journal of Microbiology*. 2016; 14(3):254-64.
33. Overview of Texture Profile Analysis (TPA). [citado em: 14/07/2021]. Disponível em: <https://texturetechnologies.com/resources/texture-profile-analysis#tpa-measurements>.

