

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

RODRIGO SANTOS LEITE

**FARINHA DE *TEMPEH* LIOFILIZADO OU TORRADO NA  
FORMULAÇÃO DE BISCOITOS DE COCO EM SUBSTITUIÇÃO  
PARCIAL À FARINHA DE SOJA: ELABORAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA  
2013

RODRIGO SANTOS LEITE

**FARINHA DE *TEMPEH* LIOFILIZADO OU TORRADO NA  
FORMULAÇÃO DE BISCOITOS DE COCO EM SUBSTITUIÇÃO  
PARCIAL À FARINHA DE SOJA: ELABORAÇÃO E  
CARACTERIZAÇÃO**

Dissertação de mestrado, apresentado ao Curso de Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dra. Neusa Fátima Seibel  
Coorientador: Dra. Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi

LONDRINA  
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

L533f Leite, Rodrigo Santos

Farinha de *tempeh* liofilizado ou torrado na formulação de biscoitos de coco em substituição parcial à farinha de soja: elaboração e caracterização / Rodrigo Santos Leite. - Londrina: [s.n.], 2013.

XI, 73 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profª Drª Neusa Fátima Seibel

Co-orientadora: Drª Mercedes Corcódia Carrão-Panizzi

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2013.

Bibliografia: f. 29-35

1. Soja - Produtos. 2. Farinha de soja. 3. Alimentos - Avaliação sensorial. 4. Biscoitos. I. Seibel, Neusa Fátima, orient. II. Carrão-Panizzi, Mercedes Corcódia, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. V. Título.

CDD: 664.726

**FOLHA DE APROVAÇÃO**  
**Título da Dissertação Nº 07**

**“Farinha de *tempeh* liofilizado ou torrado na  
formulação de biscoitos de coco em substituição  
parcial à farinha de soja: elaboração e  
caracterização”**

por

**Rodrigo Santos Leite**

Esta dissertação foi apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTAL – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Campus Londrina, às 14h30m do dia 30 de outubro de 2013. O trabalho foi aprovado pela Banca Examinadora, composta por:

---

Neusa Fátima Seibel, Dra.  
(Presidente)

---

Adelaide Del Pino Beleia, Dra.  
(UEL)

---

Nilson Evelázio de Souza, Dr.  
(UTFPR Campus Londrina)

Visto da coordenação:

---

Prof. Marly S. Katsuda, Dra.  
(Coordenadora do PPGTAL)

Dedico este trabalho à minha esposa  
Joyce, pela compreensão e apoio nos  
momentos difíceis, e à minha filha  
Rafaela, por ser a fonte de inspiração e  
minha razão para não desistir jamais.

## **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho é fruto do trabalho de muitas mãos, que me ajudaram a continuar quando tudo parecia impossível, sem pedir nada em troca.

Agradeço à minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dra. Neusa Seibel, pela disponibilidade infinita, e pela paciência em entender as minhas limitações e defeitos, sem nunca me deixar desistir.

À minha co-orientadora e colega de trabalho, Dra. Mercedes, pelo empurrão inicial e sabedoria com que me acompanhou nestes quase 3 anos.

Ao meu superior imediato, Sr. Marcos Mandarino, pela colaboração na pesquisa realizada.

À Embrapa Soja e Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela estrutura disponibilizada, indispensável para o sucesso deste trabalho.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer esse desafio.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

Permita que o alimento seja teu  
medicamento, e que o medicamento seja  
teu alimento.

(HIPÓCRATES, 2500 a.C.)

## RESUMO

LEITE, Rodrigo S. **Farinha de *tempeh* liofilizado ou torrado na formulação de biscoitos de coco em substituição parcial à farinha de soja: elaboração e caracterização.** 2013. 75 fls. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2013.

Neste trabalho, foram estudadas a possibilidade e os benefícios na aplicação da farinha de *tempeh* como substituinte parcial da farinha de soja integral. Para isto, inicialmente foram avaliados a composição proximal e os teores de isoflavonas (agliconas e totais) nas farinhas de soja integral e de *tempeh*. Foram utilizados grãos de soja das cultivares BRS 216, BRS 257 e BRS 267, a fim de verificar as alterações causadas pela fermentação com o fungo *Rhizopus oligosporus*, utilizado para obtenção do *tempeh*, e o efeito dos processos de secagem por torra controlada e liofilização sobre a farinha final obtida. Os resultados obtidos das farinhas de *tempeh* demonstraram um aumento nos teores de proteínas para todas as cultivares, com destaque para a BRS 216, que obteve valores finais de  $57,36 \text{ g.100g}^{-1}$  e  $59,30 \text{ g.100g}^{-1}$  nos *tempeh* torrado e liofilizado, respectivamente. Foi verificada também redução dos teores de carboidratos totais, causada principalmente pela solubilização em água durante o processo de obtenção do *tempeh*, e uma elevada taxa de conversão dos compostos isoflavonóides, com aumento dos teores de agliconas (formas ativas para o organismo humano) para o *tempeh* liofilizado e torrado em todas as cultivares avaliadas, tendo a BRS 267 obtido o maior teor final de agliconas. Por esta razão, a BRS 267 foi escolhida para obtenção das farinhas mistas de soja e *tempeh* torrado/liofilizado, e para os testes de formulação do biscoito, que foi avaliado quanto à composição proximal, teor de agliconas, perfil de ácidos graxos e testes sensoriais de aceitação e intenção de compra. Os resultados desta segunda etapa comprovaram a manutenção do teor de ácido linolênico, importante para redução dos riscos de doenças coronarianas, além do ganho nos teores de agliconas quando utilizada a farinha de *tempeh*. Houve também alterações nos teores de proteínas e lipídios e, nos testes sensoriais, ficou evidenciada a semelhança entre as formulações, com notas satisfatórias para os atributos de aroma, sabor, textura e aceitação global dos biscoitos com farinha de soja e *tempeh*, quando comparadas ao biscoito contendo apenas farinha de soja. A intenção de compra também foi positiva, o que indica a torra como processo simples e economicamente viável para processamento do *tempeh*, e obtenção de uma farinha rica em proteínas e isoflavonas agliconas, que pode ser empregada como substituinte parcial à farinha de soja em biscoitos e outros produtos de panificação.

**Palavras-chave:** Isoflavonas. *Rhizopus oligosporus*. Farinha mista. Análise sensorial. Processamento.

## ABSTRACT

LEITE, Rodrigo S. **Toasted or lyophilized *tempeh* flour in coconut biscuits in partial substitution for soy flour:** preparation and characterization. 2013. 75 pg. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Tecnologia de Alimentos) –Federal Technology University - Parana. Londrina, 2013.

In this study, the benefits and application of *tempeh* flour as an alternative for soybean flour were evaluated. In the first stage, proximal composition, aglycone and total isoflavone content were analyzed in the soybean and *tempeh* flour. Grains of cultivars BRS 216, BRS 257 and BRS 267 were tested, in order to verify the effects of *Rhizopus oligosporus*, which is used for *tempeh* fermentation, plus the drying methods of controlled toasting and lyophilization, over the final flour. The results for *tempeh* flour showed an increase in protein content for all the cultivars, especially for BRS 216, which presented final values of 57.36g.100g<sup>-1</sup> and 59.30g.100g<sup>-1</sup> for toasted and lyophilized *tempeh* flour, respectively. Total carbohydrates presented a reduction for all cultivars, mostly due to water solubilization during the process for *tempeh* preparation, and the isoflavone content showed a high conversion rate, with gains in aglycone levels (active forms for human consumption) for all lyophilized and toasted *tempeh* flours. BRS 267 showed the higher values for aglycone, reason to be chosen for the second part of the study, when mixed flour of soybean and lyophilized/toasted *tempeh* flour were obtained and applied in the formulation of coconut biscuits, which were evaluated for proximal composition, aglycone content, fatty acid profile and affective sensory analyses. Use of *tempeh* flour caused increase in aglycones level while linolenic acid content remained stable, which is important to reduce risks of coronary diseases. Lipids and protein contents also showed differences, and the sensory analysis demonstrated similarity between the biscuits, with satisfactory scores in aroma, flavor, texture and overall acceptability for cookies containing soy and *tempeh* flour, when compared to the cookie formulated with soy flour only. Purchase intention was also positive for both, which indicates roasting process, a simple and economically feasible drying method, for processing *tempeh* to a flour. This ingredient, rich in protein and aglycone isoflavones, important for human health, can be used as a partial substitute for soybean flour in cookies and other bakery products.

**Keywords:** Isoflavones. *Rhizopus oligosporus*. Mixed flour. Sensory analyses. Processing.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Referencial teórico	
Figura 1 – Estrutura de isoflavonas agliconas e glicosídicas.....	20
Artigo 1	
Figura 1 – Método tradicional de produção do <i>tempeh</i> .....	50
Artigo 2	
Figura 1 – Gráfico das notas para intenção de compra dos biscoitos.....	62
Apêndice	
Figura 1 – Ficha utilizada nas avaliações sensoriais.....	66

## LISTA DE TABELAS

Artigo 1	
Tabela 1 – Composição proximal das farinhas de soja integral e <i>tempeh</i> .....	48
Tabela 2 – Agliconas e isoflavonas totais das farinhas de soja e <i>tempeh</i> .....	49
Artigo 2	
Tabela 1 – Formulação dos biscoitos contendo farinhas de <i>tempeh</i> .....	56
Tabela 2 – Composição proximal dos biscoitos formulados.....	59
Tabela 3 – Teores de ácidos graxos nos biscoitos formulados.....	60
Tabela 4 – Agliconas e isoflavonas totais nos biscoitos formulados.....	61
Tabela 5 – Resultados do teste de aceitação sensorial dos biscoitos.....	61

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS**

### **LISTA DE ABREVIATURAS**

a.C.	Antes de Cristo
pH	Potencial de Hidrogênio
HCl	Ácido Clorídrico
HDLs	Lipoproteínas de alta densidade
LDLs	Lipoproteínas de baixa densidade

### **LISTA DE SIGLAS**

CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ANOVA	Análise Normal de Variância

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 OBJETIVO GERAL .....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
3.1 A SOJA NO MUNDO E NO BRASIL .....	16
3.2 CONSUMO DE SOJA .....	17
3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SOJA .....	18
3.3.1 ISOFLAVONAS .....	19
3.4 <i>TEMPEH</i> .....	21
3.4.1 OBTENÇÃO E CONSUMO .....	21
3.4.2 PROPRIEDADES QUÍMICAS E FUNCIONAIS .....	22
3.5 OS PROCESSOS DE SECAGEM: TORRA E LIOFILIZAÇÃO .....	24
3.6 APLICAÇÕES DA FARINHA DE <i>TEMPEH</i> .....	25
3.7 IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE SENSORIAL .....	27
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	29
<b>RESULTADOS</b> .....	36
<b>ARTIGO 1</b> .....	37
<b>ARTIGO 2</b> .....	51
<b>APENDICE</b> .....	66
<b>ANEXO A</b> .....	67
<b>ANEXO B</b> .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A soja pode ser consumida de forma direta, através de seus grãos, ou indiretamente, pela ingestão de alimentos elaborados a partir do grão processado, como o extrato de soja, farinha integral, *tofu*, *missô*, *natto*, *tempeh*, proteína texturizada, concentrados e isolados proteicos, entre outros (COSTA e ROSA, 2008).

Dentre as razões apresentadas por diversos autores para o consumo de soja, estão os benefícios relacionados à presença de isoflavonas em seus grãos e produtos derivados. No entanto, dependendo do processamento, tais compostos podem sofrer perdas de até 40% no produto final. Por esta razão, alguns produtos de soja, como o *tempeh*, capazes de reter as isoflavonas em maior concentração durante o processamento, e ainda tornar mais eficiente sua absorção pelo organismo, devem ser observados com maior atenção (COSTA e BORÉM, 2003).

O *tempeh* é um alimento tradicional da Indonésia, de grande interesse internacional. É um produto à base de soja, de pequena escala de produção, fermentado pelo fungo *Rhizopus oligosporus*, e suas técnicas de produção são passadas de geração em geração entre as famílias, especialmente na Ilha de Java. A produção é realizada, de maneira genérica, pela debulha, hidratação, cozimento e fermentação dos grãos de soja (SUDGIBIA, 2001).

A atividade enzimática do fungo causa decomposição de componentes poliméricos da soja, além de modificação na estrutura de seus compostos flavonoides. Como resultado, o *tempeh* proporciona uma série de benefícios para a saúde, incluindo melhora no processo de digestão e proteção contra diarreia e doenças crônicas degenerativas (KIERS et al. 2000).

O *tempeh* fresco contém cerca de 60% de umidade. Em base seca o mesmo contém entre 48% e 55% de proteína bruta, 14% a 24% de lipídios, 24% a 28% de carboidratos e 3% de cinzas, fornecendo aproximadamente 157 calorias por 100 gramas (WINARNO, 1986; LIU 1997). De acordo com Costa e Borém (2003), é um dos produtos à base de soja com teor mais elevado de isoflavonas na forma aglicona, devido à hidrólise ocorrida durante o processo fermentativo. Além de evidenciar a ação terapêutica decorrente da presença de isoflavonas, a fermentação

simples também tem como vantagem eliminar fatores antinutricionais presentes na soja (LIU, 1997).

O consumo de *tempeh* no Brasil ainda é muito baixo, devido ao caráter exótico do produto e à escassez de opções para sua comercialização. Na tentativa de melhorar a sua aceitação e inclusão na dieta do brasileiro, uma das alternativas é a transformação do produto fresco em uma farinha que possa ser utilizada como ingrediente para elaboração de alimentos. Tavares e Kiyon (2002) trataram deste tema ao avaliar a qualidade nutricional da farinha obtida após a secagem do *tempeh* fresco, obtendo ótimos resultados nos teores proteicos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Elaboração e caracterização química de farinhas de *tempeh*, para posterior aplicação em biscoitos de coco, em substituição parcial à farinha de soja integral.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter *tempeh* a partir de grãos das cultivares BRS 216, BRS 257 e BRS 267, para posterior desidratação por meio de liofilização ou secagem em estufa, e obtenção de farinhas.
- Formular biscoitos de coco utilizando farinha de soja integral e com substituição parcial pelas farinhas de *tempeh*.
- Caracterizar as farinhas e biscoitos obtidos, através da composição proximal, perfil de ácidos graxos e teor de isoflavonas agliconas.
- Avaliar a aceitação sensorial e intenção de compra dos biscoitos produzidos com as farinhas de soja e/ou de *tempeh*.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1A SOJA NO MUNDO E NO BRASIL

Os seres humanos sempre usaram o que a natureza provia, caçavam animais e colhiam frutos, raízes e alguns cereais. No século XVIII, a população se alimentava de cerca de 240 espécies diferentes de plantas e, na trajetória histórica do ser humano, cerca de 3000 espécies de plantas foram utilizadas como alimento. No entanto, atualmente, somente cerca de 130 espécies de plantas comestíveis são cultivadas (ROSA et al. 2009). A soja (*Glycine max* (Merrill) L.) é uma destas plantas de consumo milenar. A população da Ásia oriental consome soja há mais de 2000 anos, na forma de alimentos tradicionais tais como *nimame* (soja integral cozida), *edamame* (soja verde e fresca), extrato hidrossolúvel de soja, *tofu*, *kori-tofu* (tofu desidratado a frio), *abura-age* (tofu frito), *sufu* ou *tofu-yo* (tofu fermentado), molho de soja ou *shoyu*, *misso*, *natto* e *tempeh* (FUKUSHIMA e HASHIMOTO, 1980).

Não se sabe o exato local onde se originou a soja, o mais aceito é que seja originária da região leste da Ásia, provavelmente do norte da China, por volta do século XI a.C. A partir de então, o cultivo da soja se propagou para outras partes do mundo. Seu cultivo na China foi importante, sendo considerada uma planta indispensável para a existência da sua população e civilização (MORAIS e SILVA, 1996).

No Brasil, a soja passou a ser conhecida em 1882, quando se realizaram as primeiras pesquisas voltadas para a área de agronomia, como os testes de adaptação de culturas, realizados por Dutra em 1891. Assim como nos Estados Unidos, a soja era estudada mais como cultura forrageira, esporadicamente produzida para ração de consumo animal. Alguns anos depois, foram distribuídas sementes de soja para produtores paulistas. Nesta mesma época, houve registro do primeiro cultivo de soja no Rio Grande do Sul, com um bom desenvolvimento do grão. Deste modo, em meados dos anos 50 os agricultores eram incentivados a plantar soja como melhor alternativa de verão para suceder ao trigo cultivado no inverno (VIDOR, 2003).

Contudo, somente na década de 1970 observou-se o crescimento da sua produção no país. Entre 1970 e 1979 a cultura de soja se expandiu na Região Sul e São Paulo, devido a alguns fatores como: condições de clima favoráveis, boa infraestrutura (sistema viário, portuário, comunicação), além do estabelecimento de uma complexa e articulada rede de pesquisa de soja, entrelaçada com um cooperativismo dinâmico e eficaz (BARRETO, 2009).

Atualmente, a soja é o principal produto agrícola de exportação do Brasil, com uma produção de aproximadamente 66 milhões de toneladas em 2013, o que faz do nosso país o segundo maior produtor e exportador mundial (CONAB, 2013). Entretanto, o uso de soja como ingrediente na obtenção de produtos alimentícios ainda é limitado, e o Brasil acaba destinando apenas 3% da sua produção à alimentação humana, sendo a maior parte exportada ou direcionada para ração animal (DANTAS, 2010).

### 3.2 CONSUMO DE SOJA

Nos países orientais há um amplo consumo da soja, principalmente em sua forma fermentada, onde a absorção de nutrientes é potencializada. Em 1996, pesquisas mostraram que a ausência de celulite em mulheres orientais se devia à ingestão regular de soja e seus derivados, principalmente a lecitina (HASSE, 1996).

No Brasil, a falta de hábito da população brasileira em consumir alimentos contendo soja, e o desconhecimento de potenciais benefícios relacionados à sua inclusão na dieta resulta em um mercado ainda muito incipiente. Os produtos orientais tradicionais, como *tofu*, *miso*, *kinako*, *moyashi*, *tempeh* e *natto* são comercializados principalmente em casas especializadas. Em supermercados, os produtos de maior presença são as proteínas vegetais texturizadas, empregadas como substitutos da carne, e mais recentemente as bebidas à base do extrato de soja (CHIARELLO, 2002).

Em virtude do elevado potencial de produção, do baixo custo e do alto valor nutricional, a soja tem se destacado como importante fonte proteica de origem vegetal. Seus principais produtos são a farinha, o isolado e o concentrado proteico

de soja, os quais são utilizados principalmente como melhoradores nutricionais de alimentos industrializados (LIU, 2005).

Entretanto, o uso de soja como ingrediente na obtenção de produtos alimentícios tem sido limitado pelo seu sabor de “feijão cru”. O sabor característico, conhecido como *beany flavour*, é atribuído à presença das lipoxigenases, enzimas que oxidam os ácidos graxos poli-insaturados existentes no grão, em especial o ácido linoleico (MORAIS e SILVA, 2000). Mas essa situação está mudando, principalmente face ao desenvolvimento de novas tecnologias, que favorecem a melhora do sabor, incluindo o tratamento térmico dos grãos no processamento, tanto industrial como caseiro ou o melhoramento genético para a eliminação das enzimas lipoxigenases.

### 3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SOJA

O grão de soja possui entre 38 a 40% de proteínas, 19 a 20% de lipídios, 5% de minerais e 23 a 34% de carboidratos. Dos 5% de minerais que compõem a soja, em 100 gramas de grãos, há 240 miligramas de cálcio, 580mg de fósforo, 9,4 mg de ferro, 1 mg de sódio, 1900 mg de potássio, 220 mg de magnésio e 0,1 mg de cobre, entre outros minerais (LIU, 1997; EMBRAPA, 2013).

A soja madura contém traços de monossacarídeos (glucose e arabinose) e quantidades consideráveis de dissacarídeos (sacarose) e oligossacarídeos (rafinose e estaquiose), os quais não são degradados pelas enzimas do trato digestivo humano, causando flatulência (LIU, 1997). Entretanto, processos como a fermentação tem sido utilizados para reduzir ou eliminar esses efeitos (CARRÃO – PANIZZI, 1996).

A proteína da soja possui características tecnológicas, pois tem a capacidade de melhorar certas propriedades num sistema alimentar, tais como a formação e estabilidade dos alimentos com ela associados (WANG et al. 2000), além de também estar associada à propriedades funcionais biológicas, quando atua na diminuição do colesterol sanguíneo. Seus efeitos incluem a redução em 13% nas lipoproteínas de baixa densidade (LDLs) e em 10% os níveis de triacilgliceróis, além

de contribuírem para o aumento de 2% nas lipoproteínas de alta densidade - HDLs (COSTA e BORÉM, 2003).

As proteínas presentes em maior quantidade no grão de soja são as proteínas de reserva glicínica e  $\beta$ -conglícinina, lipoxigenases, inibidor de tripsina Kunitz, inibidores de protease de baixo peso molecular, lectina e urease (MORAES et al. 2006). Linhagens de alto teor de proteínas (acima de 44%) parecem conter maiores teores de  $\beta$ -conglícinina e glicínica do que as linhagens normais, e as quantidades relativas dessas duas proteínas e de seus polipeptídeos constituintes variam entre as linhagens (YAKLICH, 2001).

Os lipídios presentes na soja madura são constituídos basicamente por seis ácidos graxos: palmítico, esteárico, oleico, linoleico, araquídico e linolênico. Estes ácidos possuem uma cadeia formada por átomos de carbono e hidrogênio e um grupo terminal denominado carboxila (LEHNINGER, 2000). Os ácidos graxos insaturados presentes no grão de soja possuem grande importância para a alimentação humana, segundo Raven (2007), que destaca o ácido linolênico. Outros autores, como Liu et al. (2007), destacam a soja como fonte de ácido linoleico, um dos ácidos graxos essenciais que se constitui em reserva de energia no corpo humano.

### 3.3.1 ISOFLAVONAS

Dentre os vários benefícios do consumo diário de soja está a presença dos compostos isoflavonas em seu grão. As isoflavonas são compostos fenólicos do grupo dos flavonoides, compostas por quatro formas químicas: agliconas,  $\beta$ -glicosídicas e  $\beta$ -glicosídicas conjugadas com grupamentos malonil e acetil. Na soja, são encontradas as agliconas daidzeína e genisteína, além de traços de gliciteína, que quando conjugadas com glicose, formam a genistina, daidzina e glicitina (Figura 1). Estas possuem suas correspondentes formas malonil-glicosídicas e acetil-glicosídicas, totalizando doze possíveis compostos distintos (LIU, 1997).

As isoflavonas têm sido apontadas por diversos pesquisadores como o principal composto fenólico presente no grão de soja. Sua concentração e composição variam de acordo com a parte do grão analisada - casca, cotilédones e

gérmen - conforme trabalho de Silva et al. (2012), podendo oscilar nas diferentes cultivares desenvolvidas dentro e fora do Brasil, com valores entre 126,1 mg.100g<sup>-1</sup> e 409,2 mg.100g<sup>-1</sup> do grão. Tal variação não depende apenas de fatores genéticos, mas também das épocas de plantio e colheita, localização geográfica e temperatura durante a safra (TSUKAMOTO et al. 1995; ARAUJO, CARLOS e SEDYAMA, 1997; CARRÃO-PANIZZI et al. 1999).

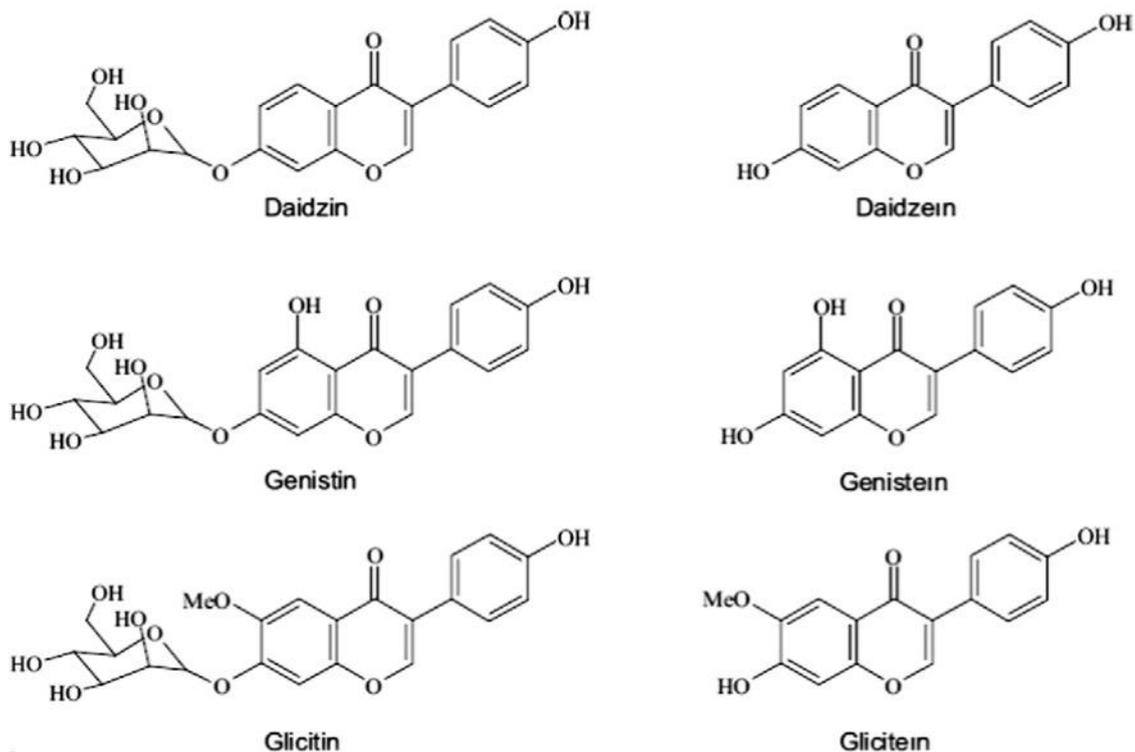


Figura 1 - Estrutura de isoflavonas agliconas e glicosídicas.

Fonte: Silva et al. (2011)

Diversos autores têm avaliado os benefícios do consumo de isoflavonas. Liggins et al. (2000) e Brouns (2002) estudaram as isoflavonas por sua atividade biológica, que inclui ação estrogênica, antioxidante e antitumoral, além da sua capacidade de contribuir na redução dos riscos e na prevenção de doenças cardiovasculares e na osteoporose. Somados a estes, estudo científico publicado por Kris-Etherton et al. (2002) demonstraram que as mulheres podem usufruir dos benefícios de uma dieta à base de soja para elevar suas dosagens de fitoestrógenos, afim de reduzir os sintomas da menopausa.

Ao serem ingeridas, as formas glicosídicas (genistina e daidzina) são desconjugadas pelas enzimas  $\beta$ -Glicosidase, além de bactérias presentes no intestino, obtendo-se as agliconas, que são suas formas mais ativas (TERESA, 2006). As mesmas são absorvidas no estômago e intestino. Contudo, essa reação não ocorre somente no processo digestivo, podendo ocorrer por meio de temperatura elevada, hidrólise ácida ou enzimática, e por vias fermentativas (BARBOSA et al. 2006).

Ao manipular a soja, para que seja possível o seu consumo, ocorrem algumas perdas, principalmente durante o aquecimento. A torra do grão pode resultar em uma perda de 15% e 21% nos teores de daidzeína e genisteína respectivamente. (COSTA e ROSA, 2008). Por esta razão, pesquisadores têm procurado maneiras de reduzir a perda de isoflavonas durante o processamento da soja para o consumo humano, afim de não comprometer a propriedade funcional a ela atribuída. Desta forma, a hidrólise enzimática tem sido aplicada como alternativa para a obtenção de produtos de soja com elevados teores de isoflavonas, em especial as formas agliconas. Exemplo disso é o *tempeh*, produto fermentado de soja com elevados teores de daidzeína e genisteína, provavelmente devido à hidrólise enzimática alcalina (BARBOSA et al. 2006).

### 3.4 TEMPEH

#### 3.4.1 OBTENÇÃO E CONSUMO

A soja fermentada é largamente consumida na Ásia, em países como Japão e China, e atualmente tem sido verificado um aumento no seu consumo em países do Ocidente, devido à presença elevada de compostos funcionais como as isoflavonas agliconas (MEJIA e LUMEN, 2006). Entre os diversos alimentos obtidos pela fermentação dos grãos de soja está o *tempeh*, produzido pela inoculação dos cotilédones sem casca, com esporos de culturas puras do fungo *Rhizopus microsporus* variedade *oligosporus*, em temperaturas que podem variar entre 30 e 37°C, durante 24 horas (NOUT e KIERS, 2005).

O *tempeh* foi desenvolvido inicialmente como uma alternativa para o consumo de carne na Indonésia. Caracterizado pela alta digestibilidade, se tornou um produto global ao longo do último século, muito consumido e sendo um dos alimentos favoritos na dieta dos vegetarianos. Nas últimas décadas, um número crescente de não-vegetarianos tem incluído o *tempeh* em sua dieta, como alternativa ao consumo de carne (SUDIGBIA, 1999). Um dos principais aliados na popularização do *tempeh* foi a publicação de diversos estudos abordando fatores de qualidade, modificações nutricionais e biológicas decorrentes da fermentação durante o seu preparo (LIU, 1997). De lá pra cá, outros pesquisadores tem comprovado a mesma teoria, como Mo (2013), que relacionou o forte aumento nos teores de agliconas na soja processada com a degradação das formas glicosídicas daidzina, glicitina e genistina pelas enzimas  $\beta$ -glucosidases, ativadas durante a hidratação e a fermentação dos grãos.

O processo de fermentação para obtenção do *tempeh* pode ser conduzido na presença de culturas puras do fungo *Rhizopus*, desde que pertencente às variedades *oligosporus*, *oryzae* e *stolonifer* (CUEVAS-RODRIGUEZ et al. 2006). Durante o período de incubação, que pode durar até 48 horas, como já demonstrado por Nakajima (2005), os cotilédones de soja são recobertos e penetrados por uma camada branca, densa e não-esporulada de micélios que os ligam, formando uma massa compacta e maleável.

#### 3.4.2 PROPRIEDADES QUÍMICAS E FUNCIONAIS

O *tempeh* fresco contém aproximadamente 60% de umidade. Em base seca o mesmo contém entre 48% e 55% de proteínas, 14% a 24% de lipídios, 24% a 28% de carboidratos e 3% de cinzas, fornecendo aproximadamente 157 calorias por 100 gramas (WINARNO e REDDY, 1986; LIU 1997). Em relação à soja em grãos, o *tempeh* apresenta valores maiores para diversos nutrientes, como as vitaminas do grupo B e os compostos fitoquímicos e antioxidantes (ASTUTI et al. 2000).

Durante a fermentação ocorrem alterações químicas e nutricionais que acarretam uma melhoria no aroma, sabor, e também nas propriedades funcionais da soja, em razão das enzimas produzidas durante o processo, capazes de atuar sobre

as proteínas, lipídios e carboidratos. As proteínas são hidrolisadas em aminoácidos e peptídeos por enzimas proteolíticas, o ácido fítico é degradado em fosfato inorgânico (HANDOYO e MORITA, 2006). Também os açúcares complexos, como a rafinose e estaquiose, causadores de flatulência, são quebrados em açúcares digestíveis (BAVIA et al. 2012).

Outro fator interessante é a capacidade do *tempeh* atuar contra o stress oxidativo, que pode ser relacionado como causa de várias doenças crônicas degenerativas, como o câncer, doenças cardiovasculares, osteoporose e sintomas da menopausa (BERGHOFER et al. 1998). Assim como outros produtos de soja, o *tempeh* se beneficia da ação das isoflavonas contra a peroxidação lipídica pela sua atividade antioxidante. As isoflavonas glicosiladas presentes no grão de soja *in natura* podem ser transformadas, por processos enzimáticos como a fermentação proporcionada pelo fungo *Rhizopus oligosporus*, em agliconas como daidzeína e genisteína, cujas atividades antioxidantes têm sido superiores às das formas glicosiladas (PARK et al. 2001).

Os aminoácidos não são afetados pela fermentação rápida na produção do *tempeh*, contudo estudos mostraram que após 60 horas de fermentação podem ocorrer perdas de 25% nos teores de lisina (WINARNO e REDDY, 1986). Em relação ao perfil de ácidos graxos, observa-se a redução no teor de ácido linolênico e aumento do ácido oleico (BISPING et al. 1993). Estudos mostraram que os ácidos graxos presentes no *tempeh in natura* são mais resistentes à oxidação quando comparados com os ácidos graxos do grão de soja, devido à ação antioxidante do composto 4,6,7-trihidroxiisoflavona, produzida pelo fungo *Rhizopus spp* (PACKETT et al. 1971; IKEHATA et al. 1968).

Durante o processo fermentativo, as bactérias e leveduras desempenham um papel importante na produção de vitamina B12, sendo o *tempeh* o único produto de origem vegetal que contém tal vitamina (DENTER e BISPING, 1994; OKADA et al. 1985). Também são observadas alterações nos micronutrientes: apesar da redução nos teores de potássio, ocorre um aumento na biodisponibilidade de minerais como cálcio, cobre, ferro, fósforo, magnésio, manganês e zinco devido à redução dos teores de ácido fítico durante a produção (MOELJOPAWIRO et al. 1988; VAN DER RIET et al. 1987).

### 3.5 OS PROCESSOS DE SECAGEM: TORRA E LIOFILIZAÇÃO

Depois de obtido, recomenda-se que o *tempeh* fresco seja consumido imediatamente, ou conservado sob refrigeração pelo menor tempo possível, pois durante a fermentação o pH dos cotilédones acidificados eleva-se do valor inicial de 3,5 – 4,5, para 6,5 – 7,0 no *tempeh* fresco, e continua a subir após a incubação, podendo atingir valores próximos a 8 ou mais. A limitação do tempo de prateleira do *tempeh* está associada com esta elevação no pH, que acarreta o desenvolvimento de odor amoniacal quando são atingidos valores de pH entre 7,5 e 8,0, suficientes para volatilização da amônia (SPARRINGA e OWENS, 1999). Por esta razão, se faz necessário utilizar processos de secagem para aumentar a vida útil do *tempeh*, e neste contexto surgem duas alternativas industrialmente possíveis e tecnologicamente viáveis: torra e liofilização.

Segundo Tattini et al. (2006), a liofilização é um processo de secagem constituído de três etapas: congelamento, secagem primária e secagem secundária. A finalidade do congelamento dentro do processo de liofilização consiste na imobilização do produto a ser liofilizado, interrompendo reações químicas e atividades biológicas. O material, previamente congelado, é desidratado por sublimação seguida pela dessorção, utilizando-se baixas temperaturas de secagem a pressões reduzidas. A estrutura e forma do produto, assim como a taxa de sublimação, são determinadas pelo processo de congelamento. A estrutura não deve ser alterada durante o processo de liofilização para se evitar a ocorrência de danos irreversíveis ou a perda do produto.

Por estas razões, a liofilização tem se mostrado um método atrativo para estender o tempo de prateleira de diversos alimentos. A ausência de ar, somada às temperaturas mais baixas que a ambiente, impedem ou previnem a deterioração do produto por oxidação ou modificações químicas. Este método pode minimizar danos ao produto, causados pela sua decomposição, além de minimizar as alterações estruturais, de textura, aparência e sabor, as quais podem ocorrer em decorrência da secagem com altas temperaturas (ANWAR e KUNZ, 2011).

O processo de liofilização, no entanto, pode acarretar algumas consequências indesejáveis para o produto final, como o aumento na taxa de oxidação de lipídios. Desobry (1997), Rahman et al. (2002) e Anwar e Kunz (2011) sugerem que a

microestrutura dos óleos livres no produto liofilizado é composta por depósitos descontínuos, causados pela desestabilização da emulsão óleo-água durante o processo de congelamento e sublimação. Somado a isso, a porosidade em produtos liofilizados é maior, o que facilita a difusão do oxigênio na estrutura alimentar. Como consequência, produtos liofilizados tornam-se instáveis e mais susceptíveis à oxidação lipídica, quando comparados a produtos semelhantes e que passaram pela secagem tradicional com ar seco e quente.

Em contrapartida, a secagem por convecção forçada, ou torra, pode desencadear a reação de Maillard, tornando a farinha final mais escura, característica que pode afetar a qualidade sensorial do produto formulado com esta matéria-prima. Perez et al. (2013), em sua pesquisa sobre os efeitos das farinhas de soja e trigo sobre a coloração de biscoitos, observou que farinhas com maiores teores de açúcar tendem a apresentar coloração escura mais acentuada após o forneamento dos biscoitos, e destacou a importância de se observar este efeito da reação de Maillard sobre a matéria-prima quando da utilização de farinhas mistas, devido à sua influência sobre as características sensoriais do produto final.

### 3.6 APLICAÇÕES DA FARINHA DE *TEMPEH*

A transformação da soja em produtos mais práticos para o consumo acompanha as tendências internacionais, visando atingir segmentos de maior renda, mais preocupados com aspectos ligados à saúde. Este fato tem promovido mudanças nas indústrias, nas relações entre fornecedores e demandantes, na logística da distribuição e na segmentação de mercado e produtos, de acordo com Rosa et al. (2009).

Atualmente, umas das formas mais simples de inserção da soja na dieta humana é o emprego da sua farinha como ingrediente na fabricação de produtos de panificação e massas, entre outros. Mesmo sendo o seu derivado menos processado, é o industrializado mais importante, pois é usado para enriquecer alimentos e para obtenção de texturizados, concentrados e isolados (DANTAS et al. 2010).

Segundo El-Dash et al. (1994), a adição de apenas 12% de farinha de soja desengordurada, com teor médio de 52% de proteínas, à farinha de trigo eleva seu conteúdo proteico de 11 para 16%, significando acréscimo de quase 50%. Somando-se estes fatos às considerações feitas por Ferreira et al. (2011) sobre as vantagens da fermentação da soja em relação ao consumo do grão *in natura*, quanto aos teores de agliconas e a digestibilidade proteica, chega-se à conclusão de que a utilização da farinha obtida após o preparo do *tempeh* pode representar uma alternativa possivelmente vantajosa à farinha tradicional de soja.

Silva et al. (2012) sugeriu que a caracterização tecnológica da farinha de soja fermentada, quanto às alterações de solubilidade, capacidade de geleificação, emulsificação, absorção de água e índice de solubilidade do nitrogênio, poderia ser uma alternativa para viabilizar a utilização da soja fermentada na alimentação dos países ocidentais. Para este autor, as alterações decorrentes da fermentação sobre as propriedades da farinha de soja poderiam influenciar a sua utilização como ingrediente em produtos de panificação (pães e biscoitos), bem aceitos pela população, além de conferir novas características tecnológicas, nutricionais e sensoriais. Em sua pesquisa, Tavares e Kiyon (2002) levantaram esta hipótese, e concluíram haver benefícios quanto à digestibilidade proteica da farinha de *tempeh*, sugerindo o seu emprego como ingrediente em alguns alimentos.

Ao formular a farinha mista para uso em panificação e confeitaria, devem-se considerar alguns aspectos para que sua aplicação seja viável. Dentre eles consideram-se: as propriedades reológicas da massa e as características físicas, sensoriais e nutricionais das matérias-primas empregadas na formulação. (GUILHERME e JOKL, 2005).

Além disso, os produtos devem apresentar valor nutricional pelo menos igual ao daqueles com farinha de trigo pura, e a questão econômica também deve ser observada, pois o custo final das misturas deve ser igual ou inferior ao preço final da farinha de trigo (EL-DASH, 1994). Quando isso não é possível, o alimento precisa ter esse aumento no custo justificado pela questão nutricional, para que possa ter chance de comercialização e aceitação.

### 3.7 IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE SENSORIAL

Os métodos sensoriais são classificados em três amplas categorias: discriminativos, descritivos e afetivos. Os discriminativos apresentam provas de diferenças e/ou semelhanças e compreendem testes como de comparação pareada, duo-trio e triangular. Os descritivos são de identificação e quantificação de atributos sensoriais incluindo testes de perfil de sabor, perfil de textura e análise descritiva quantitativa. Já os afetivos são de preferência e aceitação, e apresentam testes como o de comparação pareada, ordenação, escala hedônica e escala de atitude (DUTCOSKY, 2007).

Segundo Dantas et al. (2010), a determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no desenvolvimento de um produto e envolve uma série de procedimentos. Para isso, pode-se dispor de métodos afetivos, que medem as atitudes subjetivas de aceitação ou preferência de um produto (FERREIRA et al. 2000).

Os testes de aceitação e intenção de compra são utilizados quando o objetivo é avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto. As escalas aplicadas nestes testes podem ser balanceadas ou não-balanceadas, sendo as balanceadas mais utilizadas, por apresentarem igual número de categorias positivas e negativas, além de termos igualmente espaçados (MINIM, 2006). Uma das escalas mais utilizadas e defendidas nos testes afetivos é a hedônica híbrida, que de acordo com Villanueva et al. (2005) se mostrou superior à escala hedônica tradicional e às escalas auto-ajustáveis, tanto em relação ao poder discriminativo das escalas, quanto à conformidade dos dados coletados com os pressupostos estatísticos de normalidade e homocedasticidade, essenciais aos modelos ANOVA.

Tão importante quanto a escolha e correta aplicação dos testes sensoriais, é a avaliação dos dados. Os resultados obtidos de testes com escala hedônica podem ser avaliados pela análise da distribuição de frequências dos valores hedônicos em cada amostra, por meio de histogramas. Estes tornam possível a visualização da segmentação dos valores, revelando o nível de aceitação e rejeição de cada amostra, e permitindo a comparação dos desempenhos de duas ou mais amostras distintas, quanto a diversos quesitos como aroma, sabor, textura e aceitação global (MINIM, 2006). Outra forma de analisar os dados, segundo o mesmo autor, é por

meio da análise de variância (ANOVA), que considera conjuntamente as avaliações de todos os consumidores e assume que todos apresentam o mesmo comportamento, desconsiderando suas individualidades.

## REFERÊNCIAS

ANWAR, Sri H.; KUNZ, Benno. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. **Journal of Food Engineering**, n. 105, p. 367-378, 2011.

ARAUJO, Júlio M. A.; CARLOS, José C. S.; SEDYAMA, Carlos S. Isoflavonas em grãos de soja: importância da atividade de beta-glucosidase na formação do sabor amargo e adstringente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. n. 17(2), p. 137–141, 1997.

ASTUTI, Mary; et al. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. **AsiaPacificJournal of Clinical Nutrition**, n.9(4), p. 322–325, 2000.

BARBOSA, Ana Cristina L.; et al. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.26, n.4, pp. 921-926, 2006.

BARRETO, Clarissa A. Os impactos socioambientais do cultivo de soja no brasil. 2009. Disponível em:  
<[http://www.anppas.org.br/encontro\\_anual/encontro2/GT/GT05/clarissa\\_barreto.pdf](http://www.anppas.org.br/encontro_anual/encontro2/GT/GT05/clarissa_barreto.pdf)  
> Acesso em: 08 de julho de 2013.

BAVIA, Ana Carla F.; et al. Chemical composition of *tempeh* from soybean cultivars specially developed for human consumption. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. V. 32, n.3, p. 613-620, 2012.

BERGHOFER, Emmerich; et al. Antioxidative properties of faba bean, soybean and oat *tempeh*. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 49, p. 45-54. mar. 1998.

BISPING, Bernward et al. *Tempeh* fermentation: some aspects of formation of gamma-linolenic acid, proteases and vitamins. **Biotechnology Advances**, v. 11, p. 481- 493, 1993.

BROUNS, Fred. Soya isoflavones: a new and promising ingredient for the health foods sector. **Food Research International**. V.35, n.2-3, p.187-193. 2002.

CARRÃO-PANIZZI, Mercedes C. Melhoramento de soja as qualidades nutricionais In: MORAIS, A. C. de & SILVA, A. L. da (Ed) **Soja: suas aplicações**. Rio de Janeiro: MEDSI, 1996. p. 191-206.

\_\_\_\_\_; et al. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V.34, n.10, p.1787-1795, out. 1999.

CHIARELLO, Marileusa D. A soja e os alimentos funcionais: oportunidades de parcerias em P&D para os setores público e privado. **Parcerias Estratégicas** (Brasília). Brasília, v. 15, p. 45-60, 2002.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos. Brasília: CONAB, 2013. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_07\\_09\\_09\\_04\\_53\\_boletim\\_graos\\_junho\\_\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_07_09_09_04_53_boletim_graos_junho__2013.pdf)> Acesso em: 10 jul. 2013.

COSTA, Neusa M. B.; ROSA, César de O. B. **Alimentos funcionais** - benefícios para a saúde. Minas Gerais, Produção Independente, 2008. 298p.

COSTA, Neusa M. B.; BORÉM, Aluízio. **Biotecnologia e nutrição**: saiba como o DNA pode enriquecer os alimentos. São Paulo: Nobel, 2003.

CUEVAS-RODRIGUEZ, Edith; et al. Nutritional properties of *tempeh* flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). **LWT**. n.39, p. 1072–1079, 2006.

DANTAS, Maria I. de S.; et al. Farinhas de soja sem lipoxigenase agregam valor sensorial em bolos. **Revista Ceres**. Viçosa. V. 57, n.2, p. 141-144, mar/abr, 2010.

DENTER, Jutta; BISPING, Bernward. Formation of B-vitamins by bacteria during soaking process of soybeans for *tempeh* fermentation. **International Journal of Food Microbiology**. v.22, p.23-31, abr. 1994.

DESOBRY, Stephane. A.; NETTO, Flávia M.; LABUZA, Theodore P. Comparison of spray-drying, drum drying and freeze-drying for beta-carotene encapsulation and preservation. **Journal of Food Science**. v. 62 (6), p. 1158–1162, 1997.

DUTCOSKY, Silvia D. **Análise sensorial de alimentos**. 2. Ed. Curitiba, Champagnat, 2007. 239 p.

EL-DASH, Ahmed; MAZZARI, Maria R.; GERMANI, Rogério. **Tecnologia de farinhas mistas**: uso de farinha mista de trigo e mandioca na produção de pães. Brasília, EMBRAPA SPI, V.1. 8p. 1994.

EMBRAPA SOJA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: [http://www.cnpso.embrapa.br/soja\\_alimentacao/index.php?pagina=7](http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=7). Acesso: 23 set. 2013.

FERREIRA, Márcia P.; et al. Changes in the isoflavone profile and in the chemical composition of *tempeh* during processing and refrigeration. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.46, n.11, p.1555-1561, nov. 2011.

FERREIRA, Valéria. L. P.; et.al. **Análise sensorial**: testes discriminativos e afetivos. Manual: série qualidade. Campinas: SBCTA, 2000.

FUKUSHIMA, Danji; HASHIMOTO, Hiroyuki. Oriental soybean foods. In: **Processing of World Soybean Research Conference**. Colorado, Westview Press, p. 729-743, 1980.

GUILHERME, Fatima. F. P.; JOKL, Lieselotte. Emprego de fubá de melhor qualidade proteica em farinhas mistas para produção de biscoito. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**[online]. Vol. 25, n.1, pp. 63-71, 2005.

HANDOYO, Tri; MORITA, Naofumi. Structural and functional properties of fermented soybean (*tempeh*) by using *Rhizopus oligosporus*. **International Journal of Food Properties**. v.9, p. 347-355, 2006.

HASSE, Geraldo; BUENO, Fernando. **O Brasil da soja, abrindo fronteiras, semeando cidades**. Porto Alegre: L & MP, 1996. 258 p.

IKEHATA, Hideo; WAKAIZUMI, Michiko; MURATA, Kiku. Antioxidant and antihemolytic activity of a new isoflavone, "Factor 2" isolated from *tempeh*. **Agricultural and Biological Chemistry**. v. 32, p.740 -746, 1968.

KIERS, Jeroen L.; NOUT, Robert M. J.; ROMBOUTS, Frans. M.; In vitro digestibility of processed and fermented soya bean, cowpea and maize. **Journal of the Science and Agriculture**. v. 80, p. 1325-1331, 2000.

KRIS-ETHERTON, Penny M.; et al. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, n.113, p.71–88. 2002.

LEHNINGER, Albert L.; NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: SARVER, 2000, 839p.

LIGGINS, Jason; et al. Daidzein and genistein contents of vegetables. **The British Journal of Nutrition**. V.84, n.(5), p.717-725, Nov. 2000.

LIU, KeShun. **Soybeans chemistry technology and utilization**. Chapman and Hall, 1997, 532p.

\_\_\_\_\_. **Soybeans as functional foods and ingredients**. Columbia, Missouri. AOCS Press, 2005. 331 p.

LIU, WH.; INBARAJ, B. Stephen; CHEN, Bing-Hung. Analysis and formation of trans fatty acids in hydrogenated soybean oil during heating. **Food Chemistry**. n. 104, p. 1740–1749, 2007.

MEJIA, Elvira de; LUMEN, Ben O. Soybean bioactive peptides: A new horizon in preventing chronic diseases. **Sexuality, Reproduction and Menopause**. v. 4(2), p. 91–95. 2006.

MINIM, Valéria P. R. **Análise sensorial**: estudos com consumidores. Viçosa, UFV, 2006. 225p.

MO, Haizhen; et al. Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate, vitamin B12 and isoflavones in tofu and tempe. **Food Chemistry**. V. 141, p. 2418–2425, 2013.

MOELJOPAWIRO, Sugiono; FIELDS, Michael L.; GORDON, D. Bioavailability of zinc in fermented soybeans. **Journal of Food Sciences**. v. 53, p. 460-463, 1988.

MORAES, Rita M. A.; et al. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v. 41, n. 5, p. 725-729, maio 2006.

MORAIS, Álvaro A. C.; SILVA, Alcino L. **Soja**: suas aplicações. São Paulo: Medsi, 1996.

\_\_\_\_\_. Valor nutritivo e funcional da soja. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. v.15, p. 306-315, 2000.

NAKAJIMA, Nobuyoshi; et al. Analysis of isoflavone content in *tempeh*, a fermented soybean, and preparation of a new isoflavone-enriched *tempeh*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v.100, n.6, p.685-687. 2005.

NOUT, Robert M. J.; KIERS, Jeroen L. Tempe fermentation, innovation and functionality: Up-date into the 3rd millenium. **Journal of Applied Microbiology**. n.98, p.789–805, 2005.

OKADA, Naoki; et al. Isolation of bacteria producing vitamin b12 from fermented soybean *tempeh* of Indonesia. **Report of National Food Research Institute**. v.46, p.15-20, 1985.

PACKET, Leonard V.; CHEN, Linda H.; LIU, Jean Y. Antioxidant potential of *tempeh* as compared to tocopherol. **Journal of Food Science**. v.36, n.5, p.798-799, 1971.

PARK, Yong K.; et al. Enrichment of isoflavone aglycones in extracted soybean isoflavones by heat and fungal beta-glucosidase. **Food Science and Industry**. v.34(4): p.14-19, 2001.

PEREZ, Santiago; et al. Effect of soy flour and whey protein concentrate on cookie color. **Food Science and Technology**. v.50, p.120-125, 2013.

RAHMAN, Shafiur M.; AL-AMRI, Omar S.; AL-BULUSHI, Ismail M. Pores and physico-chemical characteristics of dried tuna produced by different methods of drying. **Journal of Food Engineering**. v.53(4), p.301–313, 2002.

RAVEN, Peter H.; EVERT, Ray F.; EICHHORN, Susan E. **Biologia vegetal**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

ROSA, Alessandra M.; et al. Alimentos fermentados à base de soja (Glycinemax (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. **Brazilian Journal of Biosciences**. Porto Alegre, v.7, n.4, p.454-462, out./dez. 2009.

SILVA, Carlos E.; et al. Teores de isoflavonas em grãos inteiros e nos componentes dos grãos de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v.15, n.2, p.150-156, abr./jun. 2012.

SILVA, Leomar H.; et al. Effect of the fermentation of whole soybean flour on the conversion of isoflavones from glycosides to aglycones. **Food Chemistry**. v.128, p.640–644, 2011.

SILVA, Leomar H.; et al. Caracterização físico-química e tecnológica da farinha de soja integral fermentada com *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas. v.15, n.4, p.300-306, out./dez. 2012.

SPARRINGA, Roy A.; OWENS, David. Causes of alkalization in tempe solid substrate fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**. n.25, p.677–681, 1999.

SUDGIBIA, Ismail. *Tempeh* in the management of infant diarrhea in Indonesia. In AGRANOFF, J. (Ed). **The complete handbook of tempeh**. American Soybean Association, Singapore, p.33-40, 1999.

\_\_\_\_\_. *Tempeh* in the management of infant diarrhea in Indonesia. In: AGRANOFF, J. (Ed.). **The complete handbook of tempeh: the unique fermented soyfood of Indonesia**. 2. ed. Singapore: American Soybean Association, Liat Towers, 2001. p.23-40.

TATTINI, Virgilio; PARRA, Duclerc F.; PITOMBO, Ronaldo N. M. Influência da taxa de congelamento no comportamento físico-químico e estrutural durante a liofilização da albumina bovina. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.42, n.1, jan./mar., 2006.

TAVARES, Suely G.; KIYAN, Choiti. Avaliação da qualidade nutricional da proteína da farinha de *tempeh*, produto fermentado obtido a partir da soja. **Alimentos e Nutrição**. São Paulo, v.13, p.23-33, 2002.

TERESA, Sonia P.; et al. Absorption of isoflavones in humans: effects of food matrix and processing. **Journal of Nutritional Biochemistry**. n.17, p.257-264, 2006.

TSUKAMOTO, Chigen; et al. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.43, p.1184-1192, 1995.

VAN DER RIET, Willem B.; et al. Food chemical analysis of *tempeh* prepared from south African-grown soybean. **Food Chemistry**. v.25, p.197-206, 1987.

VIDOR, Caio. (organizador). **Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil**. Brasília, Embrapa, 358p. 2003.

VILLANUEVA, Nilda D. M.; PETENATE, Ademir J.; SILVA, Maria A. A. P. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**. v.16, p.691-703, 2005.

WANG, Sin H.; FERNANDES, Simone M.; CABRAL, Lair C. Solubilidade de nitrogênio, dispersibilidade de proteína e propriedades emulsificantes dos extratos hidrossolúveis desidratados de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.20, n.1, p.12-17, Abr 2000.

WINARNO, Florentinus G. *Tempeh*. In: REDDY, Rama N.; PIERSON, Merle D.; SALUNKHE, Dilip K. **Legume-based fermented foods**. p.95-117, 1986.

YAKLICH, Robert W.  $\beta$ -Conglycinin and glycinin in high protein soybean seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.49, p.729-735, 2001.

## RESULTADOS

Os resultados desta dissertação serão apresentados no formato de artigo(s) científico(s), conforme descritos abaixo:

ARTIGO 1 – Composição química e teor de agliconas em farinhas de *tempeh* torrado e liofilizado. Revista PAB.

ARTIGO 2 – Farinha de *tempeh* como substituinte em biscoitos de coco com farinha de soja. Revista SBCTA.

## ARTIGO 1

### Composição química e teor de agliconas em farinhas de *tempeh* torrado e liofilizado

Rodrigo Santos Leite<sup>(1,3)</sup>, Isabela Pereira Dias<sup>(1,4)</sup>, Thaisa Mara Marcello<sup>(1,4)</sup>, Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi<sup>(2)</sup> e Neusa Fátima Seibel<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Avenida dos Pioneiros, 3131 CEP 86036370 - Londrina – PR, Brasil, Fone: +55 (43) 3315-6100 / Fax: +55 (43) 3315-6121, E-mail: neusaseibel@utfpr.edu.br, thamarcello@hotmail.com, isa\_bela\_92@hotmail.com <sup>(2)</sup>Embrapa Trigo, Rodovia BR-285, Km 294, Caixa Postal 451, CEP 99001-970 Passo Fundo - RS, Brasil, Fone: +55 (54) 3316-5979 / Fax: +55 (54) 3316-5802, E-mail: mercedes.panizzi@embrapa.br <sup>(3)</sup>Embrapa Soja, Rodovia Carlos Strass, Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina – PR, Brasil, Fone: +55 (43) 3371-6094/Fax: +55 (43) 3371-6100, E-mail: rodrigo.leite@embrapa.br <sup>(4)</sup>Bolsista PET Tecnologia em Alimentos

Resumo – Foram analisadas farinhas de soja integral e dos *tempeh* obtidos com grãos de soja das cultivares BRS 216, BRS 257 e BRS 267 plantadas no município de Ponta Grossa - Paraná, a fim de verificar as alterações provenientes da fermentação com o fungo *Rhizopus oligosporus* para produção do *tempeh*. O efeito da secagem (estufa e liofilização) sobre a composição proximal e os teores de isoflavonas (totais e agliconas) nas respectivas farinhas também foi avaliado. Os resultados obtidos demonstraram alteração na composição proximal da soja após a fermentação, com aumento dos teores de proteínas para todas as cultivares, e valor mínimo de 50 g.100g<sup>-1</sup> para as farinhas de *tempeh* liofilizado e torrado. Os teores de carboidratos totais apresentaram redução média de 13 g.100g<sup>-1</sup> em comparação com as farinhas de soja integral. Quanto às isoflavonas foi observada alta taxa de conversão para as formas agliconas, especialmente para a cultivar BRS 267, que de 21,70 mg.100g<sup>-1</sup> aumentou para 53,16 mg.100g<sup>-1</sup> no *tempeh* fresco liofilizado, e para 83,03 mg.100g<sup>-1</sup> no *tempeh* torrado. Esses resultados justificam a utilização da torra como um processo simples e economicamente viável para o processamento de

farinhas a partir do *tempeh*, que pode se constituir num produto funcional rico em proteínas e isoflavonas agliconas.

Termos para indexação: fermentação, *Rhizopus oligosporus*, isoflavonas, derivados de soja.

### **Chemical composition and aglycone content of toasted and lyophilized *tempeh* flour**

Abstract - Soybean flours from whole grains and from *tempeh* processed with grains of cultivars BRS 216, BRS 257 and BRS 267 were analyzed, in order to verify chemical changes due to inoculation with the fungi *Rhizopus oligosporus* in *tempeh* production. The effects of drying - lyophilization or toasting - on chemical composition and isoflavones (total and aglycones) in the respectively *tempeh* flours were also evaluated. The results showed modifications in the soybean centesimal composition after fermentation. The protein contents increased for all cultivars, reaching final values of 50g.100g<sup>-1</sup> for lyophilized and toasted *tempeh* flour. Total carbohydrates presented an average reduction of 13g.100g<sup>-1</sup>, when compared to soybean flour. For isoflavones content, it was observed a high aglycone conversation rate, especially for BRS 267, in which the aglycones increase from 21.70mg.100g<sup>-1</sup> to 53.16mg.100g<sup>-1</sup> in the fresh *tempeh*, and 83.03mg.100g<sup>-1</sup> in the toasted *tempeh*. These results justify the application of toast, which is simple and economically viable, to obtain soybean *tempeh* flour, a product with higher contents of proteins and aglycone isoflavones.

Index terms: fermentation, *Rhizopus oligosporus*, isoflavones, soybean flour.

### **Introdução**

A soja pode ser consumida de forma direta, através de seus grãos, ou indiretamente, pela ingestão de alimentos elaborados a partir do grão processado, como o extrato hidrossolúvel de soja, farinha integral, *tofu*, *missô*, *natto*, *tempeh*, proteína texturizada, concentrados e isolados proteicos, entre outros (COSTA e ROSA, 2008).

Dentre as razões apresentadas por diversos autores para o consumo de soja, estão os benefícios relacionados à presença de isoflavonas em seus grãos e produtos derivados. No entanto, dependendo do processamento, tais compostos podem sofrer perdas de até 40% no produto final. Por esta razão, alguns produtos de soja como o *tempeh*, capazes de reter as isoflavonas em maior concentração

durante o processamento, e ainda tornar mais eficiente sua absorção pelo organismo, devem ser observados com maior atenção (COSTA e BORÉM, 2003).

O *tempeh* é um alimento tradicional da Indonésia, à base de soja, fermentado pelo fungo *Rhizopus oligosporus*. A atividade enzimática do fungo causa decomposição de componentes poliméricos da soja, além de modificação na estrutura de seus compostos isoflavonóides. Como resultado, o *tempeh* apresenta uma série de benefícios para a saúde humana, incluindo melhora no processo de digestão e proteção contra diarreia e doenças crônicas degenerativas (KIERS et al. 2000; NOUT et al. 2004). O *tempeh* fresco contém cerca de 60% de umidade. Em base seca, contém entre 48% e 55% de proteína bruta, 14% a 24% de lipídios, 24% a 28% de carboidratos e 3% de cinzas, fornecendo aproximadamente 157 calorias por 100 gramas (WINARNO e REDDY, 1986; LIU, 1997). De acordo com Costa e Borém (2003), é um dos produtos à base de soja com maiores teores de isoflavonas na forma de agliconas, fato esse atribuído ao processo de hidrólise sofrido durante o processo fermentativo. O processo de fermentação também tem como vantagem reduzir ou até mesmo eliminar fatores anti-nutricionais presentes na soja (LIU, 1997).

Ainda assim, o consumo de *tempeh* no Brasil é muito baixo, por razões lógicas, como o desconhecimento do produto, o qual não faz parte do hábito alimentar brasileiro. Convém salientar que o *tempeh* está se popularizando em países ocidentais, principalmente entre vegetarianos ou aqueles preocupados com saúde. Sendo um produto exótico para o público brasileiro, uma opção para melhorar a aceitação e a inclusão do *tempeh* na sua dieta seria a transformação do produto fresco em uma farinha, que possa ser utilizada como ingrediente em produtos de panificação. Tavares e Kiyon (2002) trataram deste tema ao avaliar a qualidade nutricional da farinha obtida após a secagem do *tempeh* fresco, obtendo ótimos resultados nos teores proteicos.

O objetivo do trabalho foi avaliar os processos de liofilização e torra do *tempeh*, quanto às alterações na composição proximal e nos perfis de isoflavonas das farinhas obtidas.

### **Material e métodos**

Foram utilizados grãos de soja das cultivares BRS 216, BRS 257 e BRS 267, desenvolvidas pela Embrapa Soja, e provenientes da safra 2010/11, semeadas no município de Ponta Grossa, PR. Para o preparo do *tempeh* foi utilizado o inóculo

liofilizado do fungo *Rhizopus microsporus* variedade *oligosporus* (Type B, purificado por TopCultures).

O *tempeh* foi preparado conforme o método tradicional testado por Bavia et al. (2012), e ilustrado na Figura 1. Para cada uma das cultivares, os grãos secos e inteiros, após limpeza inicial para retirada de partículas estranhas, foram descascados mecanicamente em máquina descascadora (marca MaqSoy). A retirada das cascas causa a separação dos cotilédones, que são utilizados para produção do *tempeh*. Porções de 100 gramas de cotilédones foram utilizadas para processar cada amostra de *tempeh*. Os cotilédones, já pesados, foram submetidos a tratamento térmico com água a 100°C, por 10 minutos. Em seguida, os cotilédones foram drenados e colocados em recipientes plásticos com tampa, imersos em água a temperatura ambiente, na proporção de 1:4 (grão/água), e mantidos a temperatura ambiente durante 17 horas. Um novo tratamento térmico foi realizado com água durante 30 minutos a 100°C. Os cotilédones cozidos foram novamente drenados, resfriados, pesados e, em seguida, inoculados com esporos do fungo, na proporção de 1000:1 (soja/fungo). Os cotilédones inoculados foram acondicionados em sacos de polipropileno (20 x 15 cm) perfurados a cada centímetro quadrado e selados termicamente.

Para incubação do fungo, as amostras foram colocadas em estufa (marca Eletrolab, modelo EL222) com controle de umidade, temperatura e fotoperíodo, por 24 horas. Seguindo parâmetros tradicionais, a temperatura utilizada foi 32°C, e umidade entre 50% a 60%, para garantir retenção da água durante a incubação. Após a incubação, os *tempeh* frescos foram cortados ao meio, sendo que metade da amostra foi congelada para posterior desidratação em liofilizador (Liobrás, modelo L101). A outra metade de cada amostra foi submetida a processo de torra durante cerca de 2 horas a 180°C com circulação forçada de ar, em estufa (marca Fanem, modelo 310).

Para obtenção das farinhas integrais, os grãos de soja foram secos em estufa com circulação forçada de ar (marca Fanem, modelo 320-SE) a 50°C por 24 horas, e triturados em moinho refrigerado (marca Tecnal, modelo TE 631/2) com velocidade de 7.000 rpm, até atingir granulometria de 40 *mesh*. As mesmas condições de moagem foram aplicadas aos *tempeh* torrado ou liofilizado.

A composição proximal de cada farinha integral de soja e das farinhas obtidas do *tempeh* torrado ou liofilizado foi determinada segundo metodologias oficiais

descritas pela AOAC (1995). A umidade foi determinada em estufa a 105°C e as cinzas em mufla a 550°C; os lipídios foram determinados pelo método Soxhlet, e as proteínas pelo método de Kjeldahl, usando fator de correção 6,25. Os carboidratos totais foram calculados por diferença.

A determinação do teor de agliconas e isoflavonas totais foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo metodologia descrita por Berhow (2002), com solução extratora de etanol 70% em água ultrapura, adicionada de ácido acético glacial (0,1%), conforme descrito por Carrão-Panizzi et al. (2002). Após a extração, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos em centrífuga refrigerada (marca Eppendorf, modelo 5417R) a 5°C e 21.000G. O sobrenadante obtido foi submetido à filtração em microfiltros com poros 0,45 µm, sendo injetados 20 µL do extrato filtrado para separação e quantificação das isoflavonas em cromatógrafo líquido (Waters modelo PDA 996, equipado com detector de arranjo de fotodiodos).

A separação e eluição das isoflavonas foram realizadas em coluna de fase reversa (ODS C18 YMC-Pack ODS-AM), com partículas de 5 µm, diâmetro de 4,6 mm e 250 mm de comprimento, em sistema de gradiente linear. O sistema inicial consistiu de 20% de eluente A (metanol acidificado com 0,025% de ácido trifluoroacético) e 80% do eluente B (água ultrapura acidificada com 0,025% de ácido trifluoroacético), com inversão linear, até atingir a proporção de 90% de A e 10% de B, após 35 minutos. Para a limpeza da coluna, foi utilizado sistema isocrático com 100% do eluente A durante 5 minutos, seguido de novo gradiente, semelhante ao inicial, por 20 minutos para equilíbrio da coluna antes da próxima injeção. O tempo total de análise foi de 60 minutos por injeção, e o fluxo do solvente foi mantido em 1 mL.min<sup>-1</sup>. Em todas as etapas, foram utilizados reagentes grau HPLC. Para quantificação das isoflavonas, foi adotada padronização externa com curvas de calibração utilizando padrões Sigma, com concentrações conhecidas.

Todos os dados obtidos foram submetidos aos testes de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade, através do software Assistat.

## **Resultados e discussão**

Na comparação da composição proximal entre as farinhas (Tabela 1), os resultados obtidos mostraram diferença significativa entre as cultivares em termos de

proteínas, lipídios e cinzas. Para os teores de proteínas, o maior valor foi encontrado na BRS 216, e o menor valor na BRS 257. Seibel et al. (2013), analisando as mesmas cultivares, encontraram resultados semelhantes (41,08 g.100g<sup>-1</sup> para BRS 216, 41,66 g.100g<sup>-1</sup> para BRS 257 e 39,41 g.100g<sup>-1</sup> para BRS 267) enquanto Bavia et al. (2012) reportaram valores inferiores (36,81 g.100g<sup>-1</sup> para BRS 216, 36,43 g.100g<sup>-1</sup> para BRS 257 e 36,69 g.100g<sup>-1</sup> para BRS 267). Tal variação ocorre pelo efeito da safra e do local de plantio sobre a composição centesimal dos grãos de soja, haja visto que Bavia et al. (2012) utilizou grãos de soja provenientes da Safra 2009/10, semeados no município de Londrina, PR, Brasil, enquanto Seibel et al. (2013) avaliou materiais de diversos municípios do Estado do Paraná, Brasil, safra 2009/10.

Pela mesma razão, os teores de cinzas encontrados não foram iguais aos apresentados por Bavia et al. (2012) e Seibel et al. (2013), os quais relataram valores semelhantes para a BRS 257 (6,33 g.100g<sup>-1</sup> e 6,60 g.100g<sup>-1</sup> respectivamente), mas inferiores para as demais cultivares - 5,66 g.100g<sup>-1</sup> e 6,35 g.100g<sup>-1</sup> para Bavia et al. (2012); 4,45 g.100g<sup>-1</sup> e 6,45 g.100g<sup>-1</sup> para Seibel et al. (2013). Estes resultados sugerem uma maior estabilidade da cultivar BRS 257 em diferentes locais e safras de plantio. Liu (1997), analisando cultivares de origem japonesa, observou teores de cinzas variados, que não ultrapassavam o valor de 5%, inferiores portanto aos apresentados no presente trabalho.

Em relação aos lipídios, o resultado diferiu do observado por Bavia et al. (2012), que encontraram valores maiores para todas as cultivares (21,98 g.100g<sup>-1</sup> - BRS 216; 22,90 g.100g<sup>-1</sup> - BRS 257; 23,94 g.100g<sup>-1</sup> - BRS 267). Houve diferença significativa apenas na cultivar BRS 267, que apresentou o menor valor, e nenhuma das cultivares se aproximou do resultado de 25,60 g.100g<sup>-1</sup>, encontrado por Silva et al. (2012) ao analisarem farinha integral de soja da BRS 232, antes e depois da fermentação. Os teores de carboidratos totais não diferiram significativamente entre as cultivares BRS 257 e BRS 267, sendo maiores que o encontrado na BRS 216.

Na composição proximal das farinhas obtidas após secagem do *tempeh*, os dados mostraram uma variação significativa em relação aos valores das farinhas de soja integral para todos os constituintes. No entanto, quando comparados os processos de secagem, observou-se que os teores de proteínas são pouco afetados pela torra, mantendo-se próximos aos valores do *tempeh* liofilizado. Exceção para a BRS 216, que apresentou redução significativa neste constituinte, embora sempre

mantendo valor superior quando comparado às demais cultivares, comprovando essa característica da cultivar, já observada por Silva et al. (2009).

Analisando os resultados de lipídios, houve um acréscimo nos teores ao longo do processamento (incubação – torra/liofilização) para as cultivares BRS 257 e BRS 267. O inverso ocorre para os teores de carboidratos totais, que sofrem redução pela solubilização parcial durante o processamento do *tempeh*, como já observado por Ferreira (2011), além de terem sido consumidos pelo fungo *Rhizopus oligosporus* no processo de fermentação. Em contrapartida, por não serem hidrossolúveis, os lipídios tiveram seus teores aumentados ao final do processamento do *tempeh*, para todas as cultivares.

A variação nos teores de proteínas também foi significativa nos *tempeh*, com teores maiores que os encontrados nas farinhas de soja integral para todas as cultivares (diferença de 11,21 g.100g<sup>-1</sup> para a BRS 257 e 10,08 g.100g<sup>-1</sup> para a BRS 267), e com destaque para a BRS 216, que apresentou o maior acréscimo (16,13 g.100g<sup>-1</sup>).

Tal alteração já havia sido observada por SMITH et al. (1964), que avaliaram o ganho no teor de proteínas ao longo do processamento para obtenção do *tempeh*, chegando a valores finais de 7% de acréscimo na proteína bruta, e por Ferreira (2011), que relacionou o incremento com a solubilização de outros constituintes durante o processo. Bisping (1993) destacou também que, além da alteração no teor total, haveria uma melhoria na qualidade proteica durante a fermentação, através da ação proteolítica do fungo sobre os aminoácidos (não avaliados neste trabalho). Além disso, os dados mostram que o processo da torra controlada não afeta significativamente o teor total da proteína bruta, sendo uma alternativa mais econômica que a liofilização para a obtenção da farinha de *tempeh*.

Os resultados de agliconas e isoflavonas totais (Tabela 2) das três cultivares estudadas apresentaram valores significativamente diferentes entre si e quando comparados a outros autores, confirmando a influência genética e climática sobre estes compostos na soja (CARRÃO-PANIZZI et al. 2004). Os teores de agliconas não diferiram dos resultados apresentados por Bavia et al. (2012) para as cultivares BRS 257 e BRS 267 (22,77 e 21,44 mg.100g<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto a cultivar BRS 216 apresentou teor de agliconas inferior às demais, e bem mais baixo que o valor encontrado por Bavia et al. (2012), de 26,74 mg.100g<sup>-1</sup>. Seibel et al. (2013), utilizando a mesma técnica de quantificação e analisando as mesmas

cultivares, encontraram teores bastante inferiores aos reportados no presente trabalho (9,42 mg.100g<sup>-1</sup> - BRS 216; 4,64 mg.100g<sup>-1</sup> - BRS 257; 11,87 mg.100g<sup>-1</sup> - BRS 267). Os baixos valores encontrados para as agliconas corroboram as observações realizadas por Carrão-Panizzi et al. (2003), de que estes compostos não estão presentes em grande proporção no grão fresco recém-colhido e inteiro, sendo necessário um processo de ruptura que facilite a absorção de água e a ação da enzima  $\beta$ -glucosidase na formação das agliconas. Houve diferença também para as isoflavonas totais nas cultivares, que foram superiores aos encontrados por Bavia et al. (2012), que obtiveram valores próximos de 200 mg.100g<sup>-1</sup>, utilizando grãos de soja provenientes da Safra 2009/10, plantados no município de Londrina - PR.

Os resultados de agliconas para as farinhas obtidas após secagem dos *tempeh* mostraram haver diferença significativa entre os processos de secagem para todas as cultivares, tendo a BRS 267 se destacado, com o maior valor após a torra. Estes resultados comprovam a teoria, já discutida anteriormente por Park et al. (2002) de que o tratamento térmico com temperaturas acima de 120°C interfere positivamente na formação das isoflavonas agliconas, a partir da conversão das demais formas malonil e glicosil. Quando comparados aos resultados encontrados para a soja integral, estes valores evidenciaram a alteração no perfil das isoflavonas, tanto pela ação do micro-organismo durante a incubação, quanto pelo processo de torra. Para todas as cultivares, houve decréscimo significativo no teor de isoflavonas totais (conversão em compostos de menor peso molecular), e acréscimo no teor de agliconas.

Tais observações já haviam sido demonstradas por Nakajima et al. (2005), que estudaram a ação do fungo *Rhizopus oligosporus* sobre a conversão de isoflavonas malonil e glicosil, em moléculas agliconas. Essas últimas, menores e mais interessantes biologicamente por apresentarem maior absorvidade sistêmica, apresentam uma melhor ação supressora sobre a arteriosclerose e os sintomas da osteoporose, que ocorrem após a menopausa.

A relação agliconas/isoflavonas totais para a farinha integral é baixa em todas as cultivares, com valores entre 0,03 (BRS 216) e 0,07 (BRS 267), devido à baixa presença de agliconas em grãos inteiros de soja sem tratamento térmico ou enzimático. Para as farinhas de *tempeh*, esta mesma relação oscilou entre 0,29 para *tempeh* liofilizado e 0,56 para *tempeh* torrado, enquanto a BRS 267 oscilou entre 0,40 para *tempeh* liofilizado e 0,72 para *tempeh* torrado, comprovando a mudança

no perfil. Estes dados sugerem que a cultivar BRS 267, por apresentar maior proporção entre as cultivares estudadas, pode ter uma melhor aplicabilidade para alimentação humana.

Além disso, foi observado que dois fatores podem ter influenciado a alteração do perfil das isoflavonas: disponibilidade de substrato para conversão e tamanho médio dos grãos. Ainda que a cultivar com grãos menores (BRS 216) tenha obtido maior incremento após a fermentação, passando de  $11,51 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  na farinha de soja integral, para  $31,53 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  (aproximadamente 3 vezes) no *tempeh* liofilizado, a cultivar que melhor converteu as isoflavonas malonil e glicosil (totais – agliconas) foi a BRS 267, que inicialmente apresentava o menor valor de isoflavonas totais.

### **Conclusões**

1. A fermentação do grão de soja com o fungo *Rhizopus oligosporus* para a produção do *tempeh* altera positivamente os teores de proteínas e carboidratos, para todas as cultivares avaliadas.
2. As farinhas de *tempeh* liofilizado e torrado, obtidas com as cultivares BRS 216, BRS 257 e BRS 267, apresentam maior quantidade de isoflavonas agliconas. Portanto, essas farinhas podem ser utilizadas como substituinte da farinha de soja integral em produtos de panificação e em outros alimentos tradicionais, constituindo um produto final com valor funcional agregado.
3. Entre os processos de secagem, a torra controlada mostra-se mais adequada, por ser um processo simples, e teoricamente mais barato, levando-se em consideração os custos energéticos dos processos e os valores dos equipamentos utilizados para a secagem por convecção forçada e para a liofilização.

### **Agradecimentos**

À Embrapa Soja, pelo suporte dado ao desenvolvimento deste trabalho, através da disponibilização do laboratório de Análises Físico-Químicas e Cromatográficas, indispensável para a obtenção dos resultados apresentados. E à CAPES, pelas bolsas de IC, via Programa PET Tecnologia de Alimentos.

### Referências

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International: 16 ed. Arlington: AOAC International; 1995. 1658p;
- BAVIA, A. C. F.; SILVA, C. E.; FERREIRA, M. P.; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; CARRÃO-PANIZZU, M. C. Chemical composition of *tempeh* from soybean cultivars specially developed for human consumption. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. vol.32, n.3, p. 613-620. 2012;
- BERHOW, M. A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (ed.). **Flavonoids in the living cell**. New York: Kluser Academic, 2002. p.61-76;
- BISPING, B.; HERING, L.; BAUMANN, U.; DENTER, J.; KEUTH, S.; REHM, H. J. *Tempeh* fermentation: some aspects of formation of gamma-linolenic acid, proteases and vitamins. **Biotechnology Advances**, v. 11, p. 481- 493, 1993;
- CARRÃO-PANIZZU, M.C.; FAVONI, S.P.G.; KIKUCHI, A. Extraction time for isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 4, p. 515-518, 2002;
- CARRÃO-PANIZZU, M. C.; SIMÃO, A. S.; KIKUCHI, A. Efeitos de genótipos, ambientes e de tratamentos hidrotérmicos na concentração de isoflavonas agliconas em grãos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 897-902, 2003;
- CARRÃO-PANIZZU, M. C.; GOÉS-FAVONI, S. P.; KIKUCHI, A. Hydrothermal treatments in the development of isoflavone aglycones in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) grains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 2, p. 225-232, 2004;
- COSTA, N.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais** - benefícios para a saúde. Minas Gerais, Produção Independente, 2008. 298p;
- COSTA, M. B.; BORÉM, A. **Biotecnologia e nutrição**- saiba como o DNA pode enriquecer os alimentos. São Paulo: Nobel, 2003;
- FERREIRA, M. P.; OLIVEIRA, M. C. N. de.; MANDARINO, J. M. G.; SILVA, J. B.; IDA, E. I.; CARRAO-PANIZZU, M. C. Changes in the isoflavone profile and in the chemical composition of *tempeh* during processing and refrigeration. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 46, n. 11, p. 1555-1561. Nov. 2011;
- KIERS, J. L., NOUT, M. J. R., ROMBOUTS, F. M. In vitro digestibility of processed and fermented soya bean, cowpea and maize. **Journal of the Science and Agriculture**, v. 80, p. 1325-1331, 2000;

- LIU, K. **Soybeans chemistry technology and utilization**. Chapman and Hall, 1997, 532p;
- NAKAJIMA, N.; NOBUYUKI, N.; ISHIHARA, K.; ISHIKAWA, A.; TSUJI, H. Analysis of isoflavone content in *tempeh*, a fermented soybean, and preparation of a new isoflavone-enriched *tempeh*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 100, n. 6, p. 685-687. 2005;
- NOUT, M. J. R.; KIERS, J.L. *Tempeh* as a functional food. In: **WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 8.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3.**, 2004, Foz do Iguassu. Proceedings... Londrina: Embrapa Soja, p. 708-713, 2004;
- PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; MASCARENHAS, H. A. A.; SCAMPARINI, A. R. P. Conversão de malonil- $\beta$ -glicosil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 22(2); p.130-135, maio-ago. 2002;
- SEIBEL, N. F.; ALVES, F. P.; OLIVEIRA, M. A.; LEITE, R. S. Brazilian Soybean Varieties for Human Use. In: EL-SHEMY, H. A. (Ed.). **SOYBEAN BIO-ACTIVE COMPOUNDS**. Croatia, InTech, 2013. 546 p;
- SILVA, J. B. Da; CARRÃO-PANIZZI, M.C.; PRUDÊNCIO, S.H. Chemical and physical composition of grain-type and food-type soybean for food processing. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.44, n.7, p.777- 784, 2009;
- SILVA, L. H.; COSTA, P. F. P.; NOMIYAMA, G. W.; SOUZA, I. P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química e tecnológica da farinha de soja integral fermentada com *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 15, n. 4, p. 300-306, out/dez 2012;
- SMITH, A. K. RACKIS, J. J.; HESSELTINE, C. W.; SMITH, M.; ROBBINS, D. J.; BOOTH, A. N. *Tempeh*: nutritive value in relation to processing. **Cereal Chemistry**, v.41, p. 173-180. 1964;
- TAVARES, S. G.; KIYAN, C. Avaliação da qualidade nutricional da proteína da farinha de *tempeh*, produto fermento obtido a partir da soja. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v.13, n. 1. 2002;
- WEI, L. S. **Domestic soybean consumption in Asia**. Illinois, 1991, p. 162-183;
- WINARNO, F. G; REDDY, N. R. *Tempeh*. In: PIERSON, M. D.; SALUNKHE, D. K. **Legume-based fermented foods**. p. 95-117, 1986.

## Tabelas e Figuras

Tabela 1 – Composição proximal das farinhas de soja integral e *tempeh* (g.100g<sup>-1</sup>).

	Cultivar	Farinha de soja integral	Farinha de <i>tempeh</i> liofilizado	Farinha de <i>tempeh</i> torrado
<b>Lipídios</b>	BRS 216	21,50 ± 0,34 <sup>Aa</sup>	21,45 ± 0,46 <sup>Ab</sup>	22,48 ± 1,25 <sup>Ab</sup>
	BRS 257	22,01 ± 0,30 <sup>Ca</sup>	26,11 ± 0,82 <sup>Ba</sup>	29,02 ± 1,15 <sup>Aa</sup>
	BRS 267	20,43 ± 0,35 <sup>Cb</sup>	22,38 ± 1,19 <sup>Bb</sup>	29,07 ± 1,32 <sup>Aa</sup>
<b>Proteínas</b>	BRS 216	43,17 ± 0,12 <sup>Ca</sup>	59,30 ± 0,98 <sup>Aa</sup>	57,36 ± 0,32 <sup>Ba</sup>
	BRS 257	39,18 ± 0,21 <sup>Bc</sup>	50,39 ± 0,28 <sup>Ab</sup>	50,84 ± 0,32 <sup>Ab</sup>
	BRS 267	40,56 ± 0,46 <sup>Bb</sup>	50,64 ± 0,63 <sup>Ab</sup>	50,96 ± 0,42 <sup>Ab</sup>
<b>Cinzas</b>	BRS 216	6,55 ± 0,09 <sup>Ab</sup>	3,21 ± 0,05 <sup>Bb</sup>	3,02 ± 0,10 <sup>Bc</sup>
	BRS 257	6,77 ± 0,15 <sup>Ab</sup>	3,77 ± 0,12 <sup>Ba</sup>	3,43 ± 0,12 <sup>Cb</sup>
	BRS 267	7,23 ± 0,09 <sup>Aa</sup>	4,00 ± 0,37 <sup>Ba</sup>	3,70 ± 0,25 <sup>Ca</sup>
<b>Umidade</b>	BRS 216	6,52 ± 0,15 <sup>Aa</sup>	3,01 ± 0,18 <sup>Bb</sup>	1,70 ± 0,24 <sup>Cb</sup>
	BRS 257	4,92 ± 0,11 <sup>Ab</sup>	3,10 ± 0,13 <sup>Bb</sup>	1,79 ± 0,28 <sup>Cab</sup>
	BRS 267	5,00 ± 0,07 <sup>Ab</sup>	3,29 ± 0,25 <sup>Ba</sup>	1,90 ± 0,21 <sup>Ca</sup>
<b>Carboidratos<sup>1</sup></b>	BRS 216	22,26 ± 0,48 <sup>Ab</sup>	13,05 ± 1,06 <sup>Cc</sup>	15,43 ± 1,19 <sup>Ba</sup>
	BRS 257	27,12 ± 0,44 <sup>Aa</sup>	16,63 ± 0,86 <sup>Bb</sup>	14,92 ± 1,26 <sup>Ca</sup>
	BRS 267	26,78 ± 0,58 <sup>Aa</sup>	19,69 ± 1,25 <sup>Ba</sup>	14,37 ± 1,23 <sup>Ca</sup>

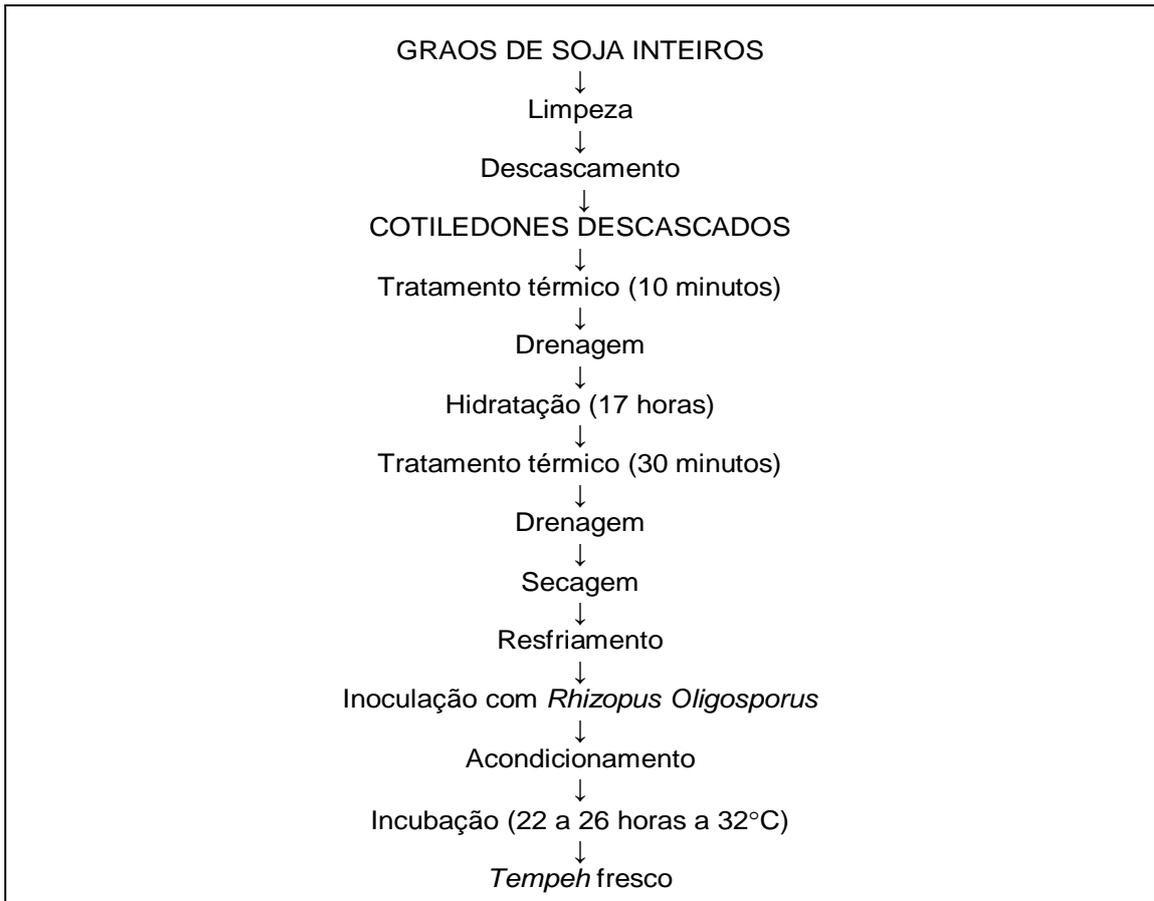
Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na linha, dentro de cada constituinte, não diferem significativamente ( $p > 0.05$ ). Médias de cultivar seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna, dentro de cada constituinte, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p > 0.05$ ). Média de seis repetições, base seca.

<sup>1</sup>Calculado por diferença.

Tabela 2 – Agliconas e isoflavonas totais das farinhas (mg.100g<sup>-1</sup>).

	Cultivar	Farinha de soja integral	Farinha de <i>tempeh</i> liofilizado	Farinha de <i>tempeh</i> torrado
<b>Agliconas</b>	BRS 216	11,51 ± 0,14 <sup>Cb</sup>	31,53 ± 0,71 <sup>Bc</sup>	52,33 ± 1,97 <sup>Ac</sup>
	BRS 257	23,22 ± 0,54 <sup>Ca</sup>	43,68 ± 0,54 <sup>Bb</sup>	61,13 ± 1,07 <sup>Ab</sup>
	BRS 267	21,70 ± 0,57 <sup>Ca</sup>	53,16 ± 2,22 <sup>Ba</sup>	83,03 ± 2,83 <sup>Aa</sup>
<b>Isoflavonas totais</b>	BRS 216	380,34 ± 3,01 <sup>Ab</sup>	105,44 ± 2,88 <sup>Bc</sup>	83,22 ± 2,12 <sup>Cb</sup>
	BRS 257	404,35 ± 9,95 <sup>Aa</sup>	151,08 ± 1,74 <sup>Ba</sup>	109,25 ± 2,30 <sup>Ca</sup>
	BRS 267	330,44 ± 7,06 <sup>Ac</sup>	132,87 ± 5,53 <sup>Bb</sup>	114,42 ± 3,69 <sup>Ca</sup>
<b>Relação agliconas/isoflavonas totais</b>	BRS 216	0,03	0,30	0,63
	BRS 257	0,06	0,29	0,56
	BRS 267	0,07	0,40	0,72

Médias de processo seguidas de mesmas letras maiúsculas na linha, dentro de cada isoflavona, não diferem significativamente ( $p>0.05$ ). Médias de cultivar seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna, dentro de cada parâmetro, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p>0.05$ ). Média de seis repetições, em base seca desengordurada.



Fonte: (WEI, 1991).

Figura 1 – Método tradicional de produção do *tempeh*.

## ARTIGO 2

### **Farinha de *tempeh* como substituinte em biscoitos de coco com farinha de soja**

Rodrigo Santos Leite (Leite, R. S.)

Embrapa Soja, Rodovia Carlos Strass, acesso Orlando Amaral, Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR, Brasil

Contato: +55 (43) 3371-6094 / Fax: +55 (43) 3371-6100

E-mail: rodrigo.leite@embrapa.br

Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi (Carrão-Panizzi, M. C.)

Embrapa Trigo, Rodovia BR-285, Km 294, Caixa Postal 451, CEP 99001-970 Passo Fundo, RS, Brasil

Contato: +55 (54) 3316-5979 / Fax: +55 (54) 3316-5802

E-mail: mercedes.panizzi@embrapa.br

Neusa Fátima Seibel (Seibel, N. F.)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Avenida dos Pioneiros, 3131 CEP 86036-370 - Londrina - PR - Brasil

Contato: +55 (43) 3315-6100 / Fax +55 (43) 3315-6121

E-mail: neusaseibel@utfpr.edu.br

Jessika Menck Curti (Curti, J. M.)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Avenida dos Pioneiros, 3131 CEP 86036-370 - Londrina - PR - Brasil

Contato: +55 (43) 3315-6100 / Fax +55 (43) 3315-6121

E-mail: jessikamenck@hotmail.com

Isabela Pereira Dias (Dias, I. P.)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Avenida dos Pioneiros, 3131 CEP 86036-370 - Londrina - PR - Brasil

Contato: +55 (43) 3315-6100 / Fax +55 (43) 3315-6121

E-mail: isa\_bela\_92@hotmail.com

## ABSTRACT

The objective was to prepare roasted and lyophilized *tempeh* flour with soybean grains of cultivar BRS 267, to apply them in the formulation of coconut biscuits. The cookies produced with pure soy flour and mixed flour of soybean and *tempeh*, were evaluated for proximate composition, fatty acid profile and isoflavone aglycone content, in order to verify the effects of inoculation with the fungus *Rhizopus oligosporus*, plus the drying processes of roasting and lyophilization, on the chemical characteristics of the final product. Sensory acceptance and purchase intent of formulated product were also evaluated. Results proved the maintenance of linolenic acid, which is important in the prevention of coronary diseases, besides the gain in aglycone levels when applied the *tempeh* flour. Lipids and protein also showed differences, and the sensory analysis demonstrated similarity between the biscuits, with satisfactory scores in aroma, flavor, texture and overall acceptability for both samples, when compared to the standard. Purchase intent was also positive for lyophilized and toasted *tempeh* flour, enabling the use of roasting process, a simple and economically feasible drying method, for processing *tempeh* and obtaining a flour rich in protein and aglycone isoflavones, which can be used as a partial substitute for soybean flour in cookies and other bakery products.

**KEYWORDS:** *Rhizopus oligosporus*, isoflavones, sensory analyses.

## 1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* Merrill) é uma importante oleaginosa e se destaca por fornecer diferentes produtos para a alimentação humana e animal, possuindo grande valor econômico no mercado nacional e internacional. Na safra 2012/2013 a produção mundial de soja foi de 285,89 milhões de toneladas, e os Estados Unidos tiveram uma produção de 93,08 milhões de toneladas de soja, sendo o maior produtor, com uma área cultivada de 31,13 milhões de hectares. O Brasil foi o segundo maior produtor mundial, com uma produção de 66 milhões de toneladas com uma ocupação de 28,25 milhões de hectares [1].

O interesse pelo processamento e comercialização da soja para consumo humano, assim como os seus produtos derivados, passa necessariamente pelo seu elevado teor proteico, e pela presença dos compostos isoflavonas em sua composição química. As isoflavonas presentes na soja coexistem em diferentes formas químicas, sendo as agliconas as mais prontamente metabolizadas. Ao serem ingeridas, as formas glicosídicas (genistina e daidzina) são desconjugadas pelo ácido clorídrico ( $\beta$ -Glicosidases HCl) do estômago, além de bactérias presentes no intestino, obtendo-se as agliconas, que são suas formas mais ativas [2]. As isoflavonas estão envolvidas em processos fisiológicos que auxiliam na redução dos riscos de doenças crônicas não degenerativas e não transmissíveis, na redução de sintomas da menopausa, na osteoporose, em alguns tipos de câncer e nas doenças cardiovasculares [3].

Diversos autores têm abordado as vantagens da fermentação em estado sólido como forma de processamento da soja para consumo humano, com destaque para as alterações no perfil de isoflavonas [4,5]. A fermentação da farinha de soja, desde que realizada em condições ideais, pode resultar em uma significativa elevação dos teores de agliconas no produto final, representando até 75,51% do teor total de isoflavonas do produto obtido [6]. Neste sentido, a utilização da farinha do *tempeh*, produto originário da Indonésia e obtido a partir da fermentação de cotilédones de soja inteiros na presença do fungo *Rhizopus microsporus* variedade *oligosporus* [7], surge como uma alternativa interessante na formulação de produtos que têm a farinha de soja como um de seus ingredientes. A farinha do *tempeh* é obtida pela redução da umidade e posterior moagem do *tempeh* in natura, em condições controladas de tempo e temperatura. A desidratação pode ser realizada por um processo tradicional de secagem em estufa [8] ou através do congelamento e

liofilização, processo alternativo de secagem que tem como principal característica a manutenção das características químicas e sensoriais do produto original [9,10].

Ao formular a farinha mista para uso em panificação e confeitaria, alguns aspectos devem ser considerados para aplicação, tais como as propriedades reológicas da massa, as características físicas, sensoriais e nutricionais das matérias-primas empregadas na formulação, o custo de obtenção da mistura e a aceitabilidade do produto final [11]. A determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no desenvolvimento de um produto [12], e para isso, pode-se dispor de métodos afetivos, que medem as atitudes subjetivas de aceitação ou preferência de um produto [13].

Os testes de aceitação e intenção de compra são utilizados quando o objetivo é avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto. As escalas aplicadas nestes testes podem ser balanceadas ou não-balanceadas, sendo as balanceadas mais utilizadas, por apresentarem igual número de categorias positivas e negativas, além de termos igualmente espaçados [14]. Uma das escalas mais utilizadas e defendidas nos testes afetivos é a hedônica híbrida, que se mostrou superior à escala hedônica tradicional e às escalas auto-ajustáveis, tanto em relação ao poder discriminativo das escalas, quanto à conformidade dos dados coletados [15].

O objetivo deste trabalho foi elaborar farinhas de *tempeh* torrado e liofilizado para aplicá-las na formulação de biscoitos de coco, afim de avaliar as características químicas e a aceitação sensorial do produto final.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de soja da cultivar BRS 267, desenvolvida pela Embrapa Soja para consumo humano [16], provenientes da safra 2010/11, plantadas no município de Ponta Grossa, PR. Para o preparo do *tempeh* foi utilizado o inóculo liofilizado do fungo *Rhizopus microsporus* variedade *oligosporus* (Type B, purificado por TopCultures).

### 2.1 ELABORAÇÃO DAS FARINHAS DE TEMPEH

O *tempeh* foi preparado conforme o método tradicional [17]. Os grãos secos e inteiros, após limpeza inicial para retirada de partículas estranhas, foram descascados mecanicamente em máquina descascadora (marca MaqSoy). A retirada das cascas possibilita a separação dos cotilédones utilizados na produção

do *tempeh*. Porções de 100 gramas de cotilédones foram utilizadas para processar cada amostra de *tempeh*. Os cotilédones já pesados foram submetidos a tratamento térmico com água a 100°C, por 10 minutos. Em seguida, os cotilédones foram drenados e colocados em recipientes plásticos com tampa, imersos em água a temperatura ambiente, na proporção de 1:4 (grão/água), e mantidos a temperatura ambiente durante 17 horas. Um novo tratamento térmico foi realizado com água durante 30 minutos a 100°C. Os cotilédones cozidos foram novamente drenados, resfriados e pesados, e em seguida inoculados com esporos do fungo *R. oligosporus* na proporção de 1000:1 (soja/fungo). Os cotilédones inoculados foram acondicionados em sacos de polipropileno (20 x 15 cm) perfurados a cada centímetro quadrado e selados termicamente. Para a fermentação, as amostras foram colocadas em estufa (marca Eletrolab, modelo EL222) com controle de umidade, temperatura e fotoperíodo, por 24 horas. Seguindo parâmetros tradicionais, a temperatura utilizada foi 32°C, e umidade entre 50% a 60%, para garantir retenção da água durante a incubação. Após a incubação, os *tempeh* frescos foram cortados ao meio, sendo que metade da amostra foi congelada para posterior desidratação em liofilizador (Liobrás, modelo L101). A outra metade de cada amostra foi submetida a processo de torra durante cerca de 2 horas a 180°C com circulação forçada de ar, em estufa (marca Fanem, modelo 310).

## 2.2 ELABORAÇÃO DA FARINHA DE SOJA INTEGRAL

Para obtenção da farinha integral, os grãos de soja foram secos em estufa com circulação forçada de ar (marca Fanem, modelo 320-SE) a 50°C por 24 horas, e triturados em moinho refrigerado (marca Tecnal, modelo TE 631/2) com velocidade de 7.000 rpm, até atingir granulometria de 40 *mesh* em peneira. As mesmas condições de moagem foram aplicadas aos *tempeh* torrado ou liofilizado.

## 2.3 ELABORAÇÃO DE BISCOITOS DE COCO COM FARINHAS MISTAS

Três tipos de produto foram formulados, idênticos em todos os ingredientes, mas com alteração na farinha de soja adicionada (Tabela 1). O biscoito padrão (PD) foi elaborado com polvilho doce, farinha de soja integral, açúcar refinado, coco seco ralado, margarina e ovos [18]. Para o biscoito A, foi utilizada uma mistura (1:1) entre farinha de soja integral e farinha de *tempeh* liofilizado, e no biscoito B, foi utilizada uma mistura (1:1) entre farinha de soja integral e farinha de *tempeh* torrado.

Tabela 1- Formulação dos biscoitos contendo farinhas de *tempeh*\*

INGREDIENTE	QUANTIDADE (g.100g <sup>-1</sup> )		
	Padrão	Biscoito A	Biscoito B
Polvilho doce	33,3	33,3	33,3
Farinha de soja	14,4	7,2	7,2
Farinha de <i>tempeh</i> liofilizado	0	7,2	0
Farinha de <i>tempeh</i> torrado	0	0	7,2
Açúcar refinado	14,4	14,4	14,4
Coco seco ralado	11,5	11,5	11,5
Margarina	11,8	11,8	11,8
Ovos	14,6	14,6	14,6

\*Cada formulação rende aproximadamente 65 biscoitos, com massa média de 10 gramas;

Para o preparo de cada formulação, foram adicionados no recipiente de uma batedeira doméstica (marca Arno, mod. BPA), as claras e gemas dos ovos, o açúcar e a margarina, que foram batidos até formação de um creme homogêneo. Em seguida, com a batedeira desligada foram adicionados a farinha de soja integral (ou mistura de farinhas), o polvilho e o coco seco ralado, misturando-os manualmente até obtenção de uma massa lisa e uniforme, que não ficasse aderida às mãos. A massa foi colocada sobre uma superfície lisa previamente limpa, e aberta com auxílio de um rolo cilíndrico apropriado. Em seguida, foi cortada com auxílio de molde circular em aço inox (4 cm diâmetro), e as porções foram distribuídas sobre assadeira previamente untada com margarina e polvilhada com farinha de trigo. Os biscoitos foram assados em forno a gás pré-aquecido (marca Dako, modelo Couraçado) por 10 minutos em temperatura baixa (aproximadamente 150°C). Após assados, os biscoitos foram retirados e colocados para resfriar em temperatura ambiente, antes de serem acondicionados em pacotes plásticos identificados e lacrados a vácuo para posterior análise sensorial. De cada formulação, foram retirados 8 biscoitos aleatoriamente, e estes foram moídos para determinação da composição proximal, perfil de ácidos graxos e teor de agliconas e isoflavonas totais.

#### 2.4 COMPOSIÇÃO PROXIMAL

Os biscoitos recém-produzidos foram triturados em moinho refrigerado (Tecnal, modelo TE 631/2) com velocidade de 7.000 rpm, até atingir granulometria de 40 mesh. A composição proximal foi determinada segundo metodologias oficiais [19,20]. A umidade foi determinada em estufa a 105°C e as cinzas em mufla a 550°C, os

lipídios pelo método de Soxhlet e as proteínas pelo método de Kjeldahl, usando fator de correção 6,25. Os carboidratos totais foram calculados por diferença.

## 2.5 PERFIL DE ISOFLAVONAS

A determinação do teor de agliconas e isoflavonas totais foi realizada através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As amostras foram tratadas com solução extratora de Etanol 70% em água ultrapura, adicionada de ácido acético glacial (0,1%) durante 60 minutos, com agitação dos tubos a cada 15 minutos [21,22]. Após a extração, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos em centrífuga (Eppendorf modelo 5417R), a 5°C e 21.000G. O sobrenadante obtido foi submetido à filtração em microfiltros com poros 0,45 µm, sendo injetados 20 µL do extrato filtrado para separação e quantificação das isoflavonas em cromatógrafo líquido (Waters modelo PDA 996, equipado com detector de arranjo de fotodiodos).

A separação e eluição das isoflavonas foram realizadas em coluna de fase reversa (ODS C18 YMC-Pack ODS-AM), com partículas de 5 µm, diâmetro de 4,6 mm e 250 mm de comprimento, em sistema de gradiente linear. O sistema inicial consistiu de 20% de eluente A (metanol acidificado com 0,025% de ácido trifluoroacético) e 80% do eluente B (água ultrapura acidificada com 0,025% de ácido trifluoroacético), com inversão constante até atingir a proporção de 90% do eluente A e 10% do eluente B, após 35 minutos. Para a limpeza da coluna, foi utilizado sistema isocrático com 100% do eluente A durante 5 minutos, seguido de novo gradiente, semelhante ao inicial, por 20 minutos para equilíbrio da coluna antes da próxima injeção. O tempo total de análise foi de 60 minutos por injeção, e o fluxo do solvente foi mantido em 1 mL.min<sup>-1</sup>. Em todas as etapas, foram utilizados reagentes grau HPLC. Para quantificação das isoflavonas, foi adotada padronização externa com curvas de calibração utilizando padrões Sigma, com concentrações conhecidas.

## 2.6 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

O perfil de ácidos graxos foi determinado por meio de cromatografia a gás [23,24]. Para cada tratamento, foram pesados 0,200 gramas de amostra (biscoito moído finamente), em tubos tipo Falcon, capacidade 50 mL, com tampa rosqueável. A metilação dos ácidos graxos, para posterior injeção, foi realizada pela adição de 5 mL de metóxido de sódio 1% em metanol, sendo os tubos agitados a cada intervalo

de 15 minutos, até 60 minutos de extração. Ao final deste tempo, foi adicionado a cada tubo 1 mL de solução de ácido acético 10%, para acidificação do meio. Em seguida, foram adicionados 10 mL de N-Heptano grau GC, e as amostras foram novamente agitadas durante 10 segundos. As amostras foram deixadas em repouso para separação das fases, e após 10 minutos, foram pipetados 2 mL da fase superior, contendo os ácidos já metilados e solubilizados em heptano. Para cada corrida cromatográfica, foram injetados 2 µL de amostra metilada, em equipamento marca Thermo, modelo Trace GC Ultra, equipado com coluna capilar de sílica, (30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e filme com 0,2 µm de espessura marca Supelco, modelo SP 2340). A injeção foi realizada a 250 °C, em modo split (20:1), e a separação dos ácidos graxos foi conduzida com temperatura inicial de 170 °C e rampa de aquecimento até 220°C em 15 minutos. A detecção foi por ionização de chama a 300 °C. O fluxo de gases foi regulado em 30 mL/minuto para o nitrogênio, 35 mL/minuto para o hidrogênio e 350 mL/minuto para o ar sintético, com tempo total de corrida de 18 minutos para cada amostra. A quantificação dos ácidos graxos foi realizada por meio da integração dos picos cromatográficos e comparação das áreas e tempos de retenção com padrão externo (marca Supelco), de concentrações conhecidas para cada ácido, injetado previamente.

## 2.7 TESTES DE ACEITABILIDADE E INTENÇÃO DE COMPRA

Foram realizados testes de aceitabilidade e intenção de compra para as três formulações de biscoitos. O painel sensorial para cada formulação foi composto por 50 provadores não treinados, homens e mulheres, com idades entre 17 e 60 anos e, em sua maioria, grau de escolaridade médio. O teste de aceitabilidade abordou quatro atributos (aroma, sabor, textura e aspecto global da amostra) e foi utilizada uma escala hedônica híbrida de 10 pontos, tendo como extremos mínimo e máximo os termos “desgostei extremamente” e “gostei extremamente”, respectivamente, e como nota intermediária o termo “não gostei, nem desgostei”. Os participantes foram instruídos e orientados a indicar o quanto gostaram da amostra em cada um dos atributos avaliados, podendo inclusive marcar regiões entre os pontos. Para avaliar a intenção de compra foi utilizada uma escala com 5 níveis: “certamente compraria”; “provavelmente compraria”; “talvez compraria, talvez não”; “provavelmente não compraria”; “certamente não compraria”.

## 2.8 TRATAMENTO DOS DADOS

Todos os resultados das determinações físico-químicas e do teste de aceitabilidade foram submetidos aos testes de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade, por meio do software Assistat.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de composição proximal dos três biscoitos formulados (Tabela 2) indicaram que a substituição parcial de 50% da farinha de soja integral pelas farinhas de *tempeh* liofilizada e torrada causa alterações nos teores de proteína, lipídios, carboidratos e cinzas. Em relação às proteínas, a formulação A (adição de farinha de *tempeh* liofilizado) apresentou valor inferior e diferente das demais, o mesmo acontecendo para a formulação B (adição de farinha de *tempeh* torrado) em relação aos lipídios.

Em contrapartida, os teores de lipídios foram semelhantes entre as formulações padrão e B, sendo observada uma redução na formulação A em relação ao padrão. O teor de carboidratos aumentou quando utilizadas ambas as farinhas de *tempeh*, liofilizado e torrado, evidenciando uma maior concentração deste nas farinhas de *tempeh*.

Tabela 2 – Composição proximal dos biscoitos formulados (g.100g<sup>-1</sup>).

	Padrão	Biscoito A	Biscoito B
Lipídios	19,37 ± 0,54 <sup>A</sup>	17,16 ± 0,35 <sup>B</sup>	19,11 ± 0,57 <sup>A</sup>
Proteínas	6,22 ± 0,13 <sup>A</sup>	6,31 ± 0,21 <sup>A</sup>	5,19 ± 0,14 <sup>B</sup>
Cinzas	1,06 ± 0,13 <sup>A</sup>	0,70 ± 0,15 <sup>B</sup>	0,67 ± 0,08 <sup>B</sup>
Umidade	4,49 ± 0,15 <sup>A</sup>	4,60 ± 0,12 <sup>A</sup>	4,61 ± 0,13 <sup>A</sup>
Carboidratos <sup>1</sup>	68,86 ± 0,63 <sup>B</sup>	71,23 ± 0,44 <sup>A</sup>	70,42 ± 0,59 <sup>A</sup>

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na linha, dentro de cada parâmetro, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p > 0.05$ ). Média de seis repetições. <sup>1</sup>Calculado por diferença.

\*Biscoito A = com farinha mista de soja integral e *tempeh* liofilizado; Biscoito B = com farinha mista de soja integral e *tempeh* torrado.

Em relação aos ácidos graxos (Tabela 3), houve diferença entre a formulação padrão e o biscoito com farinha de *tempeh* torrado (B) apenas para o ácido linolênico (C18:3). A semelhança entre os perfis comprova o fato de que fermentações curtas, como é o caso no *tempeh*, não alteram significativamente o

perfil dos ácidos graxos da soja [28], mantendo intactos os teores de ácido oleico, linoleico (ômega-6), e principalmente linolênico (ômega-3), importante na prevenção de doenças coronarianas [29]. Estes resultados representam entre 82% e 83% dos lipídios encontrados, sendo este um fator positivo para a utilização das farinhas de *tempeh*.

Tabela 3 – Teores de ácidos graxos nos biscoitos formulados (g.100g<sup>-1</sup>).

	Padrão	*Biscoito A	*Biscoito B
Palmítico	2,41 ± 0,11 <sup>A</sup>	2,15 ± 0,10 <sup>B</sup>	2,34 ± 0,09 <sup>A</sup>
Esteárico	1,47 ± 0,07 <sup>A</sup>	1,33 ± 0,05 <sup>B</sup>	1,46 ± 0,04 <sup>A</sup>
Oleico	3,93 ± 0,20 <sup>A</sup>	3,45 ± 0,14 <sup>B</sup>	3,87 ± 0,11 <sup>A</sup>
Linoleico	7,46 ± 0,35 <sup>A</sup>	6,35 ± 0,26 <sup>B</sup>	7,29 ± 0,21 <sup>A</sup>
Linolênico	0,87 ± 0,04 <sup>A</sup>	0,72 ± 0,03 <sup>C</sup>	0,82 ± 0,02 <sup>B</sup>
Araquídico	0,07 ± 0,003 <sup>A</sup>	0,06 ± 0,003 <sup>B</sup>	0,07 ± 0,004 <sup>A</sup>
TOTAL	16,22 ± 0,75 <sup>A</sup>	14,06 ± 0,57 <sup>B</sup>	15,85 ± 0,47 <sup>A</sup>

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na linha, dentro de cada parâmetro, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p>0.05). Média de seis repetições.

\*Biscoito A = com farinha mista de soja integral e *tempeh* liofilizado; Biscoito B = com farinha mista de soja integral e *tempeh* torrado.

Os resultados para as isoflavonas agliconas (Tabela 4) evidenciaram um substancial aumento nos teores destes compostos quando empregadas farinhas de *tempeh*, comprovando uma melhoria funcional, devido às isoflavonas agliconas presentes em maior concentração [25]. Estes resultados confirmam a transformação das isoflavonas glicosídicas em agliconas durante o processo de fermentação da soja com *Rhizopus oligosporus*.

Esta predominância das formas agliconas, que chega a 75% do teor total de isoflavonas no *tempeh* após incubação [26], reforça a vantagem da utilização da farinha de *tempeh* como alternativa à farinha de soja. Quando comparadas A e B, a formulação B, que utilizou farinha de *tempeh* torrado, apresentou valores inferiores tanto para os teores de agliconas quanto para as isoflavonas totais. Esta redução pode ser explicada pela ação das temperaturas elevadas (180°C na secagem do *tempeh*, 150°C no forneamento dos biscoitos) na redução e conversão de isoflavonóides [27].

Tabela 4 – Teores de agliconas e isoflavonas totais nos biscoitos formulados (mg.100g<sup>-1</sup>).

	Padrão	*Biscoito A	*Biscoito B
Agliconas	6,30 ± 0,30 <sup>C</sup>	24,78 ± 1,12 <sup>A</sup>	20,69 ± 0,38 <sup>B</sup>
Isoflavonas Totais	38,09 ± 0,71 <sup>A</sup>	38,76 ± 1,42 <sup>A</sup>	31,29 ± 0,68 <sup>B</sup>

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na linha, dentro de cada parâmetro, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p>0.05). Média de seis repetições, em base seca desengordurada.

\*Biscoito A = com farinha mista de soja integral e *tempeh* liofilizado; Biscoito B = com farinha mista de soja integral e *tempeh* torrado.

Nas avaliações sensoriais, as notas médias do teste de aceitação (Tabela 5) demonstraram haver semelhança entre o padrão e a amostra (A), com notas maiores para esta, o que indica uma preferência dos consumidores pelo biscoito com farinha de *tempeh* liofilizado.

No entanto, considerando a escala utilizada (0 a 10), percebe-se que também a amostra B obteve notas satisfatórias, e Índice de Aceitabilidade, acima de 70% para ambas, indica que não houve perda sensorial em relação ao padrão. As médias mais baixas no biscoito B podem ter sido ocasionadas por um problema durante o processo da torra da farinha utilizada, que refletiu no aroma e sabor no produto final.

Tabela 5 – Resultados obtidos no teste de aceitação sensorial dos biscoitos.

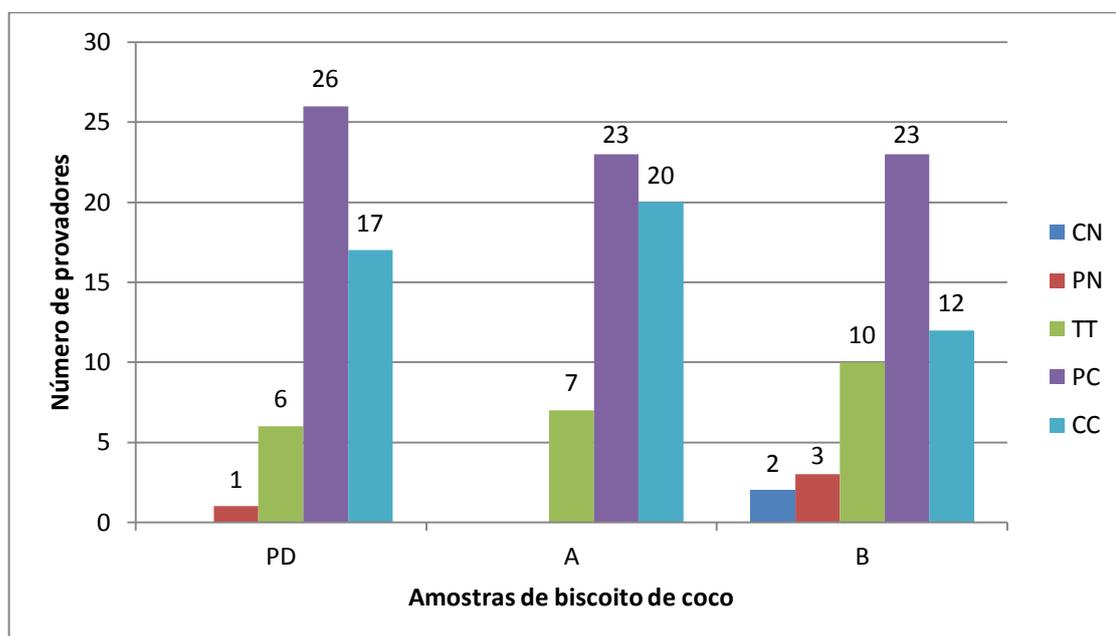
	Padrão	Biscoito A	Biscoito B
Aroma	8,17 ± 1,55 <sup>A</sup>	8,16 ± 1,62 <sup>A</sup>	7,03 ± 2,10 <sup>B</sup>
Sabor	8,50 ± 1,44 <sup>A</sup>	8,63 ± 1,24 <sup>A</sup>	7,59 ± 2,08 <sup>B</sup>
Textura	7,73 ± 2,04 <sup>A</sup>	8,16 ± 1,62 <sup>A</sup>	7,83 ± 2,07 <sup>A</sup>
Aceitação global	8,25 ± 1,35 <sup>AB</sup>	8,45 ± 1,22 <sup>A</sup>	7,71 ± 1,89 <sup>B</sup>

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na linha, dentro de cada parâmetro, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p>0.05). Média de 50 repetições.

\*Biscoito A = com farinha mista de soja integral e *tempeh* liofilizado; Biscoito B = com farinha mista de soja integral e *tempeh* torrado.

Na avaliação de intenção de compra (Figura 4), a amostra A também obteve resultados semelhantes ao padrão, se observada a soma dos dois níveis mais positivos, e melhores quando observado o deslocamento da intenção de compra para o nível mais positivo. Neste teste, ficou evidenciada uma intenção de compra diferenciada para a amostra que possuía farinha de *tempeh* torrado (B), mas ainda

assim com resultados satisfatórios para este tipo de avaliação, com intenção positiva para 35 dos 50 provadores (70%).



Onde: CN – certamente não compraria; PN – provavelmente não compraria; TT – talvez compraria, talvez não compraria; PC – provavelmente compraria; CC – certamente compraria.

\*PD = com farinha de soja integral; A = com farinha mista de soja integral e *tempeh* liofilizado; B = com farinha mista de soja integral e *tempeh* torrado.

Figura 4 – Distribuição gráfica das notas para intenção de compra dos biscoitos formulados.

#### 4. CONCLUSÕES

A fermentação com *Rhizopus oligosporus* não alterou os teores e o perfil dos ácidos graxos da farinha de *tempeh* torrada, mantendo praticamente inalteradas as concentrações dos ácidos linoleico e linolênico existentes no biscoito padrão e na amostra com farinha de *tempeh* torrado.

O aumento significativo dos teores de isoflavonas agliconas nos biscoitos com farinha mista reforça a importância funcional da farinha de *tempeh*, especialmente em produtos que tenham fácil aceitação pelo consumidor, como biscoitos e bolachas.

Os biscoitos formulados com substituição parcial da farinha de soja integral pela farinha de *tempeh* apresentaram resultados satisfatórios para os testes de aceitação e intenção de compra, com índices de aceitabilidade acima de 70%, tornando possível o seu emprego como melhorador funcional, sem diminuição de qualidade sensorial do produto final.

## REFERÊNCIAS

1. CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos. Brasília: CONAB, 2013. [Acesso em 10 jul 2013]. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_07\\_09\\_09\\_04\\_53\\_boletim\\_graos\\_junho\\_\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_07_09_09_04_53_boletim_graos_junho__2013.pdf).
2. Teresa SP, Hallund J, Talbot D, Schroot J, Williams CM, Bugel S, Cassidy A. Absorption of isoflavones in humans: effects of food matrix and processing. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2006;17:257–64.
3. McCue P, Shetty K. Health benefits of soy isoflavonoids and strategies for enhancement: A review. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, Philadelphia. 2004;44:361-7.
4. Ferreira MP, Oliveira MCN, Mandarino JMG, Silva JB, Ida EI, Carrão-Panizzi MC. Changes in the isoflavone profile and in the chemical composition of *tempeh* during processing and refrigeration. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília. Nov 2011;46(11):1555-61.
5. Mo H, Kariluoto S, Piironen V, Zhu Y, Sanders MG, Vincken JP, Wolkers-Rooijackers J, Nout MJR. Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate, vitamin B12 and isoflavones in tofu and tempe. *Food Chemistry*. 2013;141:2418-25.
6. Silva LH, Celeghini RMS, Chang YK. Effect of the fermentation of whole soybean flour on the conversion isoflavones from glycosides to aglycones. *Food Chemistry*. 2011;128:640-4.
7. Nowak J, Szebiotko K. Some biochemical changes during soybean and pea *tempeh* fermentation. *Food Microbiology*. 1992;9:37-43.
8. Silva LH, Costa PFP, Nomiya GW, Souza IP, Chang YK. Caracterização físico-química e tecnológica da farinha de soja integral fermentada com *Aspergillus oryzae*. *Brazilian Journal of Food Technology*. Out/Dez 2012;15(4):300-6.
9. Franks F. Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 1998;45:221-9.
10. Tattini V, Parra DF, Pitombo, RNM. Influência da taxa de congelamento no comportamento físico-químico e estrutural durante a liofilização da albumina bovina. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Jan/Mar 2006;42(1):127-36.

11. Guilherme FFP, Jokl L. Emprego de fubá de melhor qualidade protéica em farinhas mistas para produção de biscoito. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* [online]. 2005;25(1):63-71.
12. Dantas MIS, Silva MG, Pinto CRR, Pereira CAS, Minim VPR, Bittencourt MCB. Farinhas de soja sem lipoxigenase agregam valor sensorial em bolos. *Revista Ceres*. Mar/Abr 2010;57(2);141-4.
13. Ferreira VLP (coord). *Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos. Manual: série qualidade*. Campinas: SBCTA; 2000. 127p.
14. Minim VPR. *Análise sensorial: estudos com consumidores*. Viçosa: UFV; 2006. 225p.
15. Villanueva NDM, Petenate AJ, Silva MAA. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. *Food Quality and Preference*. 2005;16:691-703.
16. Carrão-Panizzi MC. Breeding specialty soybean cultivars for processing and value-added utilization at Embrapa in Brazil. In: 8<sup>th</sup> WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE; 2009. [CD-ROM] Beijing. Proceedings... Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences; Institute of Crop Science.
17. Bavia ACF, Silva CE, Ferreira MP, Leite RS, Mandarino JMG, Carrão-Panizzi MC. Chemical composition of *tempeh* from soybean cultivars specially developed for human consumption. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2012;32(3):613-20.
18. Mandarino JMG, Benassi VT, Carrão-Panizzi MC. Documentos 206: Manual de Receitas com Soja. Londrina: Embrapa Soja; 2003. 60p.
19. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of AOAC International*: 16 ed. Arlington: AOAC International; 1995. 1658p.
20. Zenebon O, Pascuet NS, Tiglea P. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*: 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 2008. 1020p.
21. Berhow MA. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: Buslig BS, Manthey JA. (ed). *Flavonoids in the living cell*. New York: Kluser Academic; 2002. 209p. (Adv. Exp. Med. Biol; v. 505).
22. Carrão-Panizzi MC, Favoni SPG, Kikuchi A. Extraction time for isoflavone determination, *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2002;45(4):515-8.
23. Bannon CD, Breen GJ, Craske JD, Hai NT, Harper NL, Czonyic C. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability : III. Literature review of and

- investigations into the development of rapid procedures for the methoxide-catalysed methanolysis of fats and oils. *Journal of Chromatography A*. Set 1982;247(1);71-89.
- 24.Christie WW. *Gas chromatography and lipids: A practical guide*. Scotland: Oily; 1989. 307p.
- 25.Rosa AM, Claviso J, Passos LML, Aguiar CL. Alimentos fermentados à base de soja (*Glycinemax* (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. *Brazilian Journal of Biosciences*. Out/Dez 2009;7(4):454-62.
- 26.Nakajima N, Nobuyuki N, Ishihara K, Ishikawa A, Tsuji H. Analysis of isoflavone content in *tempeh*, a fermented soybean, and preparation of a new isoflavone-enriched *tempeh*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2005;100(6):685-7.
- 27.Suqin S, Duncan AM, Yang R, Marccone MF, Rajcan I, Tsao R. Tracking isoflavones: From soybean to soy flour, soy proteinisolates to functional soy bread. *Journal of Functional Foods*. 2009;1:119-27.
- 28.Bisping B, Hering L, Baumann U, Denter J, Keuth S, Rehm HJ. *Tempeh* fermentation: some aspects of formation of gamma-linolenic acid, proteases and vitamins. *Biotechnology Advances*. 1993;11:481-93.
- 28.Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE, Visentainer JV. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição*. 2006;19(6):761-70.
- 29.Connor WE. Importance of n-3 fatty acid in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;71:171-5.

## AGRADECIMENTOS

À Embrapa Soja e Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina, pelo suporte dado ao desenvolvimento deste trabalho, através da disponibilização do laboratório de Análises Físico-Químicas e Cromatográficas, da Cozinha Experimental e do Laboratório de Análises Sensoriais, indispensáveis para a obtenção dos resultados apresentados. E à CAPES, pelas bolsas de Iniciação Científica, via Programa PET Tecnologia de Alimentos.

## APENDICE – Ficha de Análise Sensorial

<b>ANÁLISE SENSORIAL</b>	
<i>Bolacha de coco com farinha de soja</i>	
Sexo: ( ) F ( ) M	Idade: _____ Escolaridade: _____
Amostra: _____	
<b>TESTE DE ACEITABILIDADE</b>	
Por favor, avalie a amostra codificada e utilize a escala abaixo, marcando "X" em qualquer região (inclusive entre os pontos) para indicar o quanto você gostou ou desgostou em cada um dos aspectos avaliados.	
<b>AROMA</b>	<p style="text-align: center;">0 Desgostei extremamente      5 Não gostei, nem desgostei      10 Gostei extremamente</p>
<b>SABOR</b>	<p style="text-align: center;">0 Desgostei extremamente      5 Não gostei, nem desgostei      10 Gostei extremamente</p>
<b>TEXTURA</b>	<p style="text-align: center;">0 Desgostei extremamente      5 Não gostei, nem desgostei      10 Gostei extremamente</p>
<b>ACEITAÇÃO GLOBAL</b>	<p style="text-align: center;">0 Desgostei extremamente      5 Não gostei, nem desgostei      10 Gostei extremamente</p>
Se este produto estivesse disponível para comercialização, você compraria?	
<input type="checkbox"/> Certamente compraria <input type="checkbox"/> Provavelmente compraria <input type="checkbox"/> Talvez compraria/Talvez não compraria <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria <input type="checkbox"/> Certamente não compraria	
Comentários:	
<hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"/> <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"/> <hr style="border: 0; border-top: 1px solid black; margin-bottom: 5px;"/>	

## ANEXO A – Normas de submissão PAB

Fonte: <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/about/submissions#authorGuidelines>

### Forma e preparação de manuscritos

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

### Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

### Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.

- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

### Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.

- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

### **Resumo**

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

### **Termos para indexação**

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus ou no Índice de Assuntos da base SciELO .

### **Introdução**

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

### **Material e Métodos**

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.

- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

### **Resultados e Discussão**

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

### **Conclusões**

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

### **Agradecimentos**

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

### **Referências**

- A palavra *Referências* deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.

- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

### **Tabelas**

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.
- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); \* e \*\* (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

### **Figuras**

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.

## **ANEXO B – Normas de submissão SBCTA**

Fonte: [http://www.sbcta.org.br/pdfs/Instrucoes\\_Autores\\_PT.pdf](http://www.sbcta.org.br/pdfs/Instrucoes_Autores_PT.pdf)

### **Formatação dos manuscritos**

A checagem das informações e a formatação do manuscrito são de responsabilidade dos autores. Artigos originais não podem exceder 16 páginas (excluindo referências). O manuscrito deve ser digitado em espaçamento duplo, em uma única coluna justificada, com margens de 2,5 cm. Linhas e páginas devem estar numeradas sequencialmente. (Verifique também o item Formatos de arquivo ao final deste documento).

### **Página de autoria**

A página de autoria do manuscrito deverá conter as seguintes informações:

- Nome completo e e-mail de todos os autores;
- Nomes abreviados de todos os autores para citação (Ex.: nome completo: Eliana Badiale Furlong; nome abreviado: Furlong, E. B.) ;
- Informação do autor para correspondência (indicar o nome completo, endereço postal completo, números de telefone e FAX, e endereço de e-mail do autor para correspondência);
- Nomes das instituições onde o trabalho foi desenvolvido (Nome completo da Instituição e Sigla, endereço completo, CEP, País, Estado e Cidade).

### **Página de Abstract e Keywords**

**Abstract**

O abstract deve:

- Estar apenas em inglês;
- Estar em um único parágrafo de, no máximo, 200 palavras;
- Explicitar claramente o objetivo principal do trabalho;
- Delinear as principais conclusões da pesquisa;
- Se aplicável, indicar materiais, métodos e resultados;
- Sumarizar as conclusões;
- Não usar abreviações e siglas.

O Abstract não devem conter:

- Notas de rodapé;
- Dados e valores estatísticos significativos;
- Referências bibliográficas.

**Keywords**

O artigo deve conter no mínimo três(3) e no máximo seis(6) Keywords. Keywords devem estar somente em inglês. Para compor o Keywords de seu artigo, evite a utilização de termos já utilizados no título.

### **Páginas de Texto**

O trabalho deverá ser dividido nas seguintes partes. As partes devem ser numeradas na seguinte ordem:

- Introdução;
- Material e métodos, que deve incluir delineamento experimental e forma de análise estatística dos dados;
- Resultados e discussão (podendo ser separados, se necessário);
- Conclusões;
- Referências bibliográficas;

- Agradecimentos (opcional).

**No texto:**

- Abreviações, siglas e símbolos devem ser claramente definidos na primeira ocorrência;
- Notas de rodapé não são permitidas;
- Títulos e subtítulos são recomendados, sempre que necessários, mas devem ser utilizados com critério, sem prejudicar a clareza do texto. Títulos e subtítulos devem ser numerados, respeitando a ordem em que aparecem;
- Equações devem ser geradas por programas apropriados e identificadas no texto com algarismos arábicos entre parêntesis na ordem que aparecem. Equações devem ser citadas no corpo do texto e devem estar em posição a ser indicada pelo autor. Por favor, não envie imagens de equações em hipótese alguma. Equações enviadas separadamente não serão aceitas, serão consideradas apenas as equações contidas no texto.

**Tabelas, Figuras e Quadros**

Tabelas, Figuras e Quadros devem ser um conjunto de no máximo sete. Devem ser numerados com numerais arábicos, seguindo a ordem em que são citados. No Manuscrito.pdf – versão para avaliação e no Manuscrito.doc - versão para produção, tabelas, equações, figuras e quadros devem ser submetidas junto ao texto completo e nas posições preferidas pelo autor.

Veja abaixo os detalhes para o envio destes itens na versão para produção.

**Figuras e quadros (versão para produção)**

Figuras e quadros devem ser citados no corpo do texto e ordenados numericamente, utilizando-se numerais arábicos, e suas respectivas legendas devem ser enviadas no texto principal de acordo com a indicação do autor. Ao enviar figuras com fotos ou micrografias certifique-se que estas sejam escaneadas em alta resolução para que cada foto fique com no mínimo 1.000 pixels de largura. Todas as fotos devem ser acompanhadas do nome do autor, pessoa física. Para representar fichas, esquemas ou fluxogramas devem ser utilizados quadros.

**Tabelas (versão para produção)**

As tabelas devem ser citadas no corpo do texto e numeradas com algarismos arábicos. Devem vir junto ao corpo do texto em posição a ser indicada pelo autor. Tabelas enviadas separadamente não serão aceitas, serão consideradas apenas as tabelas contidas no texto. As tabelas devem ser elaboradas utilizando-se o recurso de tabelas do programa Microsoft® Word, e devem:

- Ter legenda com título da Tabela;
- Ser auto-explicativa;
- Ter o número de algarismos significativos definidos com critério estatístico que leve em conta o algarismo significativo do desvio padrão;
- Ser em número reduzido para criar um texto consistente, de leitura fácil e contínua;
- Apresentar dados que não sejam apresentados na forma de gráfico;
- Utilizar o formato mais simples possível, não sendo permitido uso de sombreamento, cores ou linhas verticais e diagonais;
- Utilizar somente letras minúsculas sobrescritas para denotar notas de rodapé que informem abreviações, unidades etc. Demarcar primeiramente as colunas e depois as linhas e seguir esta mesma ordem no rodapé.

## Referências bibliográficas

### Citações no texto

As citações bibliográficas inseridas no texto devem estar assim organizadas:

- Autores devem ser numerados de acordo com a ordem de citação no texto, remetendo à lista de referências no final do trabalho. A indicação da fonte é feita por numeração única e consecutiva, portanto não se inicia a numeração das citações a cada página.

### Lista de referências

A formatação das referências deve seguir o padrão estabelecido pela Norma Vancouver. Para consultar a Norma Vancouver acesse o site

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/?amp=&depth=2> .

A lista de referências deve ser ordenada conforme ordem numérica. Artigos em preparação ou submetidos à avaliação, teses, dissertações e congressos não devem ser incluídos nas referências. Os nomes de todos os autores deverão ser listados. Não use 'et al.'. Segundo determinação da diretoria de publicações da sbCTA os artigos aceitos cujas referências bibliográficas estejam fora do padrão determinado ou com informações incompletas **NÃO SERÃO PUBLICADOS** até que os autores tenham as referências totalmente adequadas às normas.