

Desenvolvimento de Pasta Miso com base em Feijão-frade

Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar

Paula Sofia Lourenço Fazenda

Orientadores

Professor Doutor Luís Pedro Mota Pinto de Andrade

Mestre Mário André Monteiro Cristóvão

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, realizada sob a orientação científica do do Professor Doutor Luís Pedro Mota Pinto de Andrade, do Instituto Politécnico de Castelo Branco e do Mestre Mário André Monteiro Cristóvão, do Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar (CATAA).

outubro de 2024

Composição do júri

Presidente do júri

Professor Doutor, Paulo Alexandre Justo Fernandez,
Professor Adjunto da Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

Vogal

Professor Doutor, Luís Pedro Mota Pinte do Andrade,
Professor Coordenador da Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

Arguente

Professora Doutora, Fernanda Maria Grácio Delgado Ferreira de Sousa,
Professora Adjunta da Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

Agradecimentos

A concretização deste importante objetivo contou com o envolvimento de um conjunto de pessoas às quais com muito apreço expresso os meus agradecimentos:

Ao meu orientador, o Professor Doutor Luís Pinto de Andrade pela orientação prestada, por todo o conhecimento transmitido, pelas suas opiniões e sentido crítico. Por todo o seu incentivo e disponibilidade demonstrados.

Ao meu co-orientador Mestre Mário Cristóvão pelo acompanhamento permanente, pela troca de impressões, partilha de ideias, disponibilidade e imensa paciência. A sua visão prática e objetiva foi fundamental.

À equipa do CATAA, nas pessoas da Doutora Inês Brandão, Eng. Luísa Paulo, Eng. Ana Riscado, Eng. Cátia Baptista, Eng. Ana Silveira e Eng. Ana Rodrigues por todos os contributos, esclarecimentos e apoio que me deram.

A todos os Professores que ao longo deste ciclo de estudos me permitiram aprender mais e pela dedicação e sentido de missão com que transmitem o seu conhecimento.

Ao meu marido que nunca me deixou desistir, que caminhou sempre ao meu lado e que com a sua compreensão, tranquilidade e motivação foi o suporte incondicional para que pudesse chegar até aqui.

À minha filha que todos os dias me inspira e me faz acreditar que com dedicação todas as conquistas são possíveis.

À Matilde e à Margarida pela boa energia que me passaram com a sua jovialidade e determinação.

Ao meu irmão pela sua cumplicidade de sempre.

Ao meu pai e à minha mãe pelos valores que me transmitem, pelo encorajamento e pelo privilégio da sua presença assídua. Imprescindíveis para que continue a percorrer o meu caminho.



Este projeto recebeu financiamento do Horizonte 2020 – **Programa-Quadro Comunitário de Investigação & Inovação da Comissão Europeia**, sob Acordo No.101000717

O projeto Fusilli recebe financiamento do programa de investigação e inovação Horizonte 2020 da União Europeia ao abrigo do acordo de subvenção n.º 101000717.

Resumo

Atendendo à crescente tendência em privilegiar uma dieta alimentar composta por produtos alimentares de qualidade diferenciada, que tenham repercussões diretas positivas no bem estar e saúde do consumidor e que em simultâneo possam contribuir para a sustentabilidade dos sistemas alimentares, este trabalho procurou desenvolver um novo produto, pasta miso com base em feijão-frade, selecionando para a base, duas variedades de feijão-frade endógenas do concelho de Castelo Branco, o feijão-frade cara verde e feijão-frade arroz.

Para as ambas as variedades de feijão-frade foram seguidas duas metodologias para obtenção de miso. A metodologia 1(M1) na qual se utilizou um preparado de Koji de arroz e a metodologia 2(M2) que envolveu a produção de Koji de arroz inoculado com *Aspergillus oryzae*. O miso foi sujeito a fermentação anaeróbia em estufa a 25°C por um período de 28 dias.

O miso obtido foi submetido a avaliação microbiológica, nutricional e sensorial. Para os critérios microbiológicos, o miso apresentou valores abaixo dos limites de referência, comprovando-se assim a sua estabilidade e segurança. Nutricionalmente os valores obtidos mostraram que estamos perante um produto com um baixo valor energético, baixo teor de lípidos em ambas as metodologias e variedades de feijão-frade. Sensorialmente é possível verificar que o M2 obteve uma maior aceitação da comparativamente com as M1.

Palavras-chave

Condimento, dieta evolutiva, feijão-frade, fermentação, inovação alimentar, leguminosas, miso.

Abstract

With the growing tendency to diet composed of high-quality, food products that contribute to consumers health and at the same time can contribute to the sustainability of food systems, this work aimed to develop a new food product, miso paste, using two varieties of cowpea endogenous to the municipality of Castelo Branco, the Cara Verde and the Arroz.

For both varieties of cowpea, two methodologies were used to obtain miso, the first Methodology (M1) used a rice Koji preparation, and the second methodology (M2) involved the production of rice Koji inoculated with *Aspergillus oryzae*. The miso was subjected to anaerobic fermentation at 25°C for a period of 28 days.

The miso obtained was subjected to microbiological, nutritional and sensory evaluation. For the microbiological criteria, the miso showed values below the reference limits, thus proving its stability and safety. Nutritionally, the values obtained showed that we are dealing with a product with a low energy value, low lipid content in both methodologies and varieties of cowpea. Sensorially, it can be seen that M2 was more acceptable than M1.

Keywords

Condiment, cowpea, evolutionary diet, fermentation, food innovation, legumes, miso.

Índice Geral

1.	Introdução.....	1
2.	Enquadramento teórico.....	2
2.1.	Leguminosas.....	2
2.2.	Feijão-frade.....	3
2.2.1.	Origem.....	3
2.2.2.	Caracterização e morfologia do feijão-frade.....	3
2.2.3.	Tecnologia de produção do feijão-frade.....	4
2.2.4.	Produção mundial de feijão-frade.....	4
2.2.5.	Produção de feijão-frade em Portugal.....	5
2.2.6.	Produção e caracterização do feijão-frade em Castelo Branco.....	5
2.2.7.	Impacte ambiental.....	5
2.2.8.	Utilização e benefícios para a saúde.....	6
2.2.9.	Proteínas.....	6
2.2.10.	Hidratos de carbono.....	7
2.2.11.	Vitaminas e Sais minerais.....	7
2.2.12.	Lípidos.....	7
2.2.13.	Compostos Bioativos.....	7
2.2.14.	Constituintes anti nutricionais.....	8
2.3.	Fermentação.....	8
2.3.1.	Alimentos fermentados.....	8
2.3.2.	Fermentações no feijão-frade.....	9
2.4.	Miso.....	9
2.4.1.	Tecnologia de produção de Miso.....	10
3.	Materiais e métodos.....	12
3.1.	Matérias-primas.....	12
3.2.	Metodologias aplicadas.....	13
3.3.	Desenvolvimento de pasta miso com base em Koji de arroz comercial (metodologia 1).....	13
3.4.	Desenvolvimento de pasta miso com base em arroz inoculado com esporos de <i>Aspergillus oryzae</i> (metodologia 2).....	14
4.	Metodologias para avaliação dos produtos desenvolvidos.....	17
4.1	Análises microbiológicas.....	19
4.2.	Análises Físico-químicas.....	21
4.2.1.	pH.....	21
4.2.2.	Atividade da água (a_w).....	21
4.2.3.	Humidade.....	21

4.2.4. Teor de Cinzas.....	21
4.3. Composição Nutricional	22
4.3.1. Valor energético.....	22
4.3.2. Lípidos	22
4.3.3. Hidratos de carbono.....	22
4.3.4. Açúcares	22
4.3.5. Proteína	23
4.3.6. Sódio	23
4.4. Análise sensorial.....	23
5. Análise estatística.....	25
6. Resultados e Discussão	26
6.1. Análise Microbiológicas	26
6.2. Análise Físico química.....	27
6.3. Análise Sensorial.....	28
7. Considerações Finais	29
8. Referências Bibliográficas.....	31
Anexos	1

Índice de figuras

Figura 1 - Feijão-frade da Lardosa A- variedade Cara Verde, B- variedade Arroz	12
Figura 2 - Materiais utilizados no processo de desenvolvimento do miso, A-Arroz branco agulha, B-Flor de Sal, C-Koji de arroz comercial, D-Esporos de <i>Aspergillus oryzae</i>	12
Figura 3 - Águas resultantes de cozedura do feijão-frade: Arroz(esq.), cara verde (dir.).....	13
Figura 4 - Esquema de desenvolvimento de pasta miso de base em feijão-frade cara verde e arroz utilizando Koji de arroz (metodologia 1).....	14
Figura 5 - Disposição do arroz em amontoados lineares revolidos a cada 12horas para melhor propagação dos micélios (A), início da aglomeração do arroz (B) arroz finalizado com 96 horas de incubação (C).	15
Figura 6 - Esquema de obtenção do Koji de Arroz inoculado com <i>Aspergillus oryzae</i> (metodologia 2).....	16
Figura 7 - Esquema de desenvolvimento de pasta miso de base em feijão-frade cara verde e arroz utilizando Koji de arroz obtido por inoculação com <i>Aspergillus oryzae</i> (metodologia 2).....	16
Figura 8 - Esquema de preparação e identificação de amostras para avaliação em laboratório das pastas miso desenvolvidas segundo a Metodologia 1.	17
Figura 9 - Esquema de preparação e identificação de amostras de caldo/sopa miso para avaliação em laboratório das pastas miso desenvolvidas segundo a Metodologia 2.	18
Figura 10 - Diferentes amostras de pasta miso após a fermentação M1CV (Metodologia 1 Cara Verde); M1A (Metodologia 1 Arroz); M2CV (Metodologia 2 Cara Verde); M2A (metodologia 2 Arroz).	19
Figura 11 -preparação de amostras de caldo/sopa miso para as diferentes avaliações laboratoriais de acordo com os esquemas das figuras 8 e 9.	19
Figura 12 - Preparação de amostras de miso para prova sensorial (A), amostras e identificação do miso em copo de prova (B) desenvolvimento da prova sensorial(C).	25

Lista de tabelas

Tabela 1 - Parâmetros microbiológicos realizados aos vários tipos de miso desenvolvido e respectivas referências dos métodos aplicados.....	20
Tabela 2 - Resultados de parâmetros de estabilização e determinações microbiológicas das diferentes amostras de miso em avaliação.....	27
Tabela 3 - Composição nutricional comparativa entre as diferentes amostras de miso desenvolvidas.....	27
Tabela 4 - Resultados dos atributos avaliados na prova hedónica (1 extremamente desagradável a 9 extremamente agradável) de um miso de controlo e das amostras de miso desenvolvidas.....	28

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

APN	Associação Portuguesa de Nutricionistas
FAO	Food and Agriculture Organization
INE	Instituto Nacional de Estatística
ISO	International Organization of standardization
OCDE	Organização Europeia de Cooperação Económica
ONU	Organização das Nações Unidas

1. Introdução

Algumas das mais recentes tendências para o consumo e inovação de produtos agroalimentares mostram uma preferência pela procura de alimentos de origem vegetal, designados por “Plant-based” a privilegiar uma composição nutricional rica em ingredientes estrela como a proteína e com um processo produtivo “amigo do ambiente” (iAlimentar, 2024).

As leguminosas como culturas de relevo mundial pela sua diversidade genética, adaptabilidade de cultivo e benefícios nutricionais podem futuramente incrementar resposta às dificuldades globais ao nível da segurança alimentar, ambiente e dieta alimentar saudável (Calles, 2016; Mudryj et al., 2014). No grupo das leguminosas de grão, o feijão-frade distingue-se como uma das mais importantes culturas para os países do sul da Europa pela capacidade de resistência à seca e a solos pouco férteis, acrescendo o seu elevado valor nutritivo em proteína e aminoácidos essenciais (Carvalho et al., 2016).

A Fermentação é atualmente uma técnica que ultrapassa o objetivo de conservar alimentos, pois a atuação dos microrganismos permite a obtenção de alimentos com um valor nutricional mais elevado, de maior digestibilidade, com características organolépticas atrativas e com um baixo nível de processamento (Gonçalves & Ramos, 2021).

O mercado atual apresenta ao consumidor alguma diversidade de produtos fermentados de origem vegetal entre os quais se inclui a pasta miso. O miso é uma pasta fermentada de tradição milenar na cozinha oriental, vista como uma das fontes para a longevidade dos povos asiáticos e que utiliza a soja, o arroz e o sal para produzir, mediante fermentação, o condimento utilizado para preparar a tradicional Sopa Miso (Kusumoto et al., 2021; Simões et al., 2023). Com o fenómeno da imigração dos povos asiáticos para outros países, o miso apresenta-se como um produto bem aceite nos mercados, estando o seu sabor salgado característico a conquistar a cozinha ocidental, estimando-se que no Japão, o miso seja dos alimentos fermentados o mais exportado (Kusumoto et al., 2021; Saeed et al., 2022; Shockey & Shockey, 2019).

De modo a contribuir para alguma resposta à procura pelo consumidor de alimentos promotores de saúde e bem-estar e simultaneamente com a finalidade de aliar a inovação ao incremento do consumo de leguminosas, em específico de feijão-frade mostrando a sua versatilidade, potencial gastronómico, nutricional e económica, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um novo produto, Pasta Miso com base em feijão-frade, utilizando para sua obtenção duas variedades locais, o feijão-frade cara verde e o feijão-frade arroz.

O trabalho envolveu o desenvolvimento e aplicação das metodologias para produção das pastas miso e posteriormente a sua avaliação microbiológica, físico química e sensorial. Todas as componentes do trabalho foram realizadas no Centro de

Apoio Tecnológico Agroalimentar em Castelo Branco, na unidade piloto de hortofrutícolas e laboratórios de microbiologia, físico-química e análise sensorial.

2. Enquadramento teórico

2.1. Leguminosas

As leguminosas pertencem à família das Fabaceae e caracterizam-se por serem plantas que produzem vagens com sementes (grãos) no seu interior (Stoddard, 2017). Atualmente estão identificadas cerca de 20.000 espécies, demonstrando a sua excelente capacidade de adaptação a todos os tipos de solo (Stoddard, 2017). As leguminosas podem subdividir-se entre leguminosas secas, como o grão, feijão e a lentilha e leguminosas oleaginosas como a soja e o amendoim (APN, 2016). De presença ancestral nos hábitos alimentares do Homem, o consumo de leguminosas era historicamente associado a classes sociais com menores recursos (Sobral, 2018). Com o desenvolvimento social e o aumento do poder de compra assistiu-se à diminuição do seu consumo em detrimento de outras fontes proteicas, como a carne (Sobral, 2018). A ONU (Organização das Nações Unidas) determinou o ano 2016 como o ano internacional das leguminosas e desde então a FAO (Food and Agriculture Organization), tem vindo a reforçar a importância e papel diferenciador que estas podem ter no futuro: “as leguminosas são verdadeiramente sementes nutritivas para um futuro sustentável e podem dar um contributo importante para a realização de muitos dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável” (FAO et al., 2019). Este grupo de alimentos é nutricionalmente rico em proteínas, fibras, minerais e hidratos de carbono, comportando por isso diversos benefícios para a saúde como o controlo da obesidade e colesterol, considerando-se por isso cruciais para o desenvolvimento saudável de crianças e jovens, o que legitima a sua integração nos sistemas alimentares saudáveis (FAO et al., 2019).

Na Agricultura, as leguminosas têm um papel preponderante, contribuindo para a melhoria da fertilidade do solo (Pereira et al., 2023). Esta característica advém da capacidade das leguminosas estabelecerem relações simbióticas com as bactérias *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, possibilitando assim a conversão do azoto atmosférico em compostos de azoto (FAO, 2021). O aumento da cultura de leguminosas poderá levar a impactos positivos nos ecossistemas agrícolas e na segurança alimentar, pois estas conseguem promover o aumento da biomassa, atividade microbiana do solo e o aumento da biodiversidade através de um sistema de cultivo múltiplo de leguminosas, induzindo uma maior resistência às alterações climáticas e ao restabelecimento do normal funcionamento dos ecossistemas (FAO, 2021).

Segundo a FAO, em 2017, a produção mundial de leguminosas quase ultrapassou os 86 milhões de toneladas(t), cerca de 53 % acima do valor atingido em 2000, sendo a África e o Sul das Ásias regiões do mundo que mais leguminosas produzem. Mundialmente, são consumidos em média 7 kg per capita/ano, sendo que em algumas regiões do globo como a América latina, Caraíbas, África Subsariana e Sul da Ásia estes valores são facilmente ultrapassados (FAO, 2020). Portugal em 2017 teve uma produção equivalente a 3903 t. numa área produtiva que abrangeu 5380 hectares (ha) (INE, 2023). A produção tem vindo a verificar alguma evolução uma vez que em 2022 atingiram-se valores de produção que chegaram às 6895 t. numa área de produção correspondente aos 10887 (ha) (INE, 2023). O consumo de leguminosas em Portugal em 2017 registou valores de 4,7 Kg/habitante, com ligeira descida registada em 2022 para 4,5 Kg/hab. apontam os dados provisórios (INE, 2023). Ainda assim, para suportar o consumo interno de leguminosas, Portugal recorre maioritariamente à importação de países como Argentina (43%), Estados Unidos (12%), Espanha (12%), Etiópia (12%), Canadá (11%) e México (10%) (LeguCon, 2021).

2.2. Feijão-frade

2.2.1. Origem

O feijão-frade, de nome científico *Vigna unguiculata* (L.) Walpers, pertence à família Papilionaceae (Fabaceae ou Leguminosae) é originário da África Subsariana (Affrifah et al., 2022).

Na Europa, o Feijão-frade é cultivado desde o século VIII a.C. (Coulibaly et al., 2002; Tosti e Negri, 2002 citados por (Carvalho et al., 2016) Sendo introduzida pelos muçulmanos nas invasões à Península Ibérica (Gardé e Gardé, 1981 citado por (Tendinha, 1988). Já no século VII, durante a expansão marítima foram os portugueses e os espanhóis os responsáveis pela introdução da cultura de feijão-frade no continente americano (Badiane et al., 2014).

2.2.2. Caracterização e morfologia do feijão-frade

A germinação da plântula de feijão-frade é epígea e a planta pode ter um crescimento ereto, semi-ereto, prostrado ou trepador (Singh et al., 2023; Timko & Singh, 2008). A planta do feijão-frade tem as primeiras duas folhas unifoliadas, sésseis e opostas e as restantes folhas são trifoliadas longamente pecíoladas, alternas, glabras e de cor verde carregado. A flores na planta dispõem-se em cachos e podem apresentar uma cor amarelado-purpúreas, esbranquiçado-purpúreas, branco-esverdeadas ou violáceas. As vagens são pendentes, compridas, estreitas e torulosas (Reis, 1994).

Os grãos de feijão-frade podem ter uma aparência bastante diversificada, incluindo a cor e tamanho do tegumento e a cor do olho do grão (Gerrano et al., 2017). O

tegumento pode ser liso ou enrugado, ter coloração uniforme ou em padrão, apresentando alguma variedade de cores, desde pretos, castanhos, rosa ou brancos. Por sua vez o hilo encontra-se coberto por um tecido branco e rodeado por uma faixa escura, dando-lhe uma aparência de olho (OCDE, 2019; Timko et al., 2007). As vagens e os grãos, consoante as características que apresentam são fundamentais para identificar as diversas cultivares de feijão-frade (Reis, 1994).

As variedades mais antigas de feijão-frade foram evoluindo e adaptaram-se em função das necessidades do homem e das condições edafoclimáticas (Carvalho et al., 2016). Em Portugal, o feijão-frade é em grande parte cultivado a partir de variedades locais existentes que foram selecionadas tendo em conta a boa adaptação às características das áreas geográficas de cultivo (Candeias, 2021). A grande aposta na investigação e a grande diversidade genética do feijão-frade levou à obtenção de um grande número de genótipos com melhor rendimento produtivo, de maior resistência às condições ambientais adversas, a pragas e doenças e também a uma boa adaptação à mecanização da colheita. O feijão-frade é hoje considerado um alimento funcional que desperta o interesse da indústria e do setor agrícola encontrando-se o seu cultivo em expansão (Carneiro da Silva et al., 2019).

2.2.3. Tecnologia de produção do feijão-frade

A planta do feijão-frade é uma herbácea anual, de estação quente que ao logo do seu desenvolvimento requer temperaturas mínimas de 18°C, podendo atingir o seu crescimento ótimo a temperaturas que podem chegar aos 28°C (Craufurd et al. 1997, citado por Timko & Singh, 2008). O feijão-frade é uma planta de dia curto tal como outras leguminosas de grão (Singh et al., 2023). O ciclo fenológico do feijão-frade varia entre 60 e os 150 dias, ao longo do qual existe variabilidade nas necessidades de água, sendo as fases da floração e formação da vagem as que requerem maior disponibilidade hídrica (Timko et al., 2007, Bastos et al. 2008, Lima et al. 2006 citados por (Moreira et al., 2022)).

2.2.4. Produção mundial de feijão-frade

No ano de 2022 a produção mundial de feijão-frade chegou aos 9 774 865,72 de t. África demarca-se na produção mundial de feijão-frade, com 96,9 % da produção em 2022, seguida da Ásia com 2,2 %, as américas com 0,6% e a europa com 0,2 % (23 660,83 t), quantidade pouco significativa para colocar esta leguminosa na lista dos produtos básicos primários mais produzidos na europa (FAOSTAT, 2024).

2.2.5. Produção de feijão-frade em Portugal

Em Portugal, os últimos dados do INE relativos à produção das principais culturas agrícolas, tendo como período de referência o ano de 2022, indicam que a produção total de feijão, na qual se inclui o feijão-frade, foi de 3590 t (INE, 2023).

2.2.6. Produção e caracterização do feijão-frade em Castelo Branco

Localmente, no concelho de Castelo Branco, a freguesia de Lardosa, oferece um clima e solos favoráveis ao cultivo de feijão-frade e por isso parte do investimento agrícola é feito nesta cultura, sendo também uma forma de valorizar as variedades locais existentes: o Feijão-frade da Lardosa “Cara verde”, “Arroz” e “Cara preta” (Duarte, 2023). Existem alguns fatores de diferenciação fenotípica entre estas variedades locais de feijão-frade, nomeadamente no que respeita ao tamanho do grão. O feijão-frade cara preta apresenta um grão de maior dimensão comparativamente às restantes variedades. No entanto, o feijão-frade cara verde apresenta um grão de maior dimensão em relação ao grão do feijão-frade da variedade arroz. Quanto à coloração do hilo, o feijão-frade cara verde e o feijão-frade arroz apresentam um hilo de cor verde, enquanto no feijão-frade cara preta o hilo é de cor preta. No crescimento das plantas face à adaptação ao clima, verifica-se que o feijão-frade cara verde tem um desenvolvimento vegetativo mais rápido, mas a maturação dos grãos de feijão-frade arroz e cara preta acontece primeiro (Duarte, 2023).

2.2.7. Impacte ambiental

O Feijão-frade é uma cultura com elevada adaptabilidade a solos de baixa fertilidade e compatível com uma ampla gama de pH do solo que pode variar entre 5,5 e 8,3. As condições edafoclimáticas extremas como as temperaturas elevadas e baixa disponibilidade hídrica, são favoráveis ao desenvolvimento do feijão-frade, fazendo dele uma das leguminosas com maior capacidade de sobreviver à seca e tornando-a capaz de enfrentar as alterações climáticas. Face a estas condições é considerada uma cultura de interesse e importância para os Países do sul da Europa como é o caso de Portugal (Agbicodo et al., 2009; Carvalho et al., 2016, 2017; Hall, 2004; Singh et al., 2023).

Do ponto de vista ambiental é uma cultura reconhecida como sustentável, benéfica para os sistemas agrícolas, uma vez que no solo a planta estabelece associação simbiótica com bactérias fixadoras de azoto, os rizóbios e fungos micorrízicos vesículo-arbusculares, da qual resulta uma elevada taxa de fixação de azoto e a redução ou abolição da necessidade de aplicação de fertilizantes azotados inorgânicos no solo, o que propicia o restauro a sua fertilidade (Carvalho et al., 2016, 2017).

Dados experimentais revelam que há um aumento significativo dos níveis de fixação de azoto no solo quando este é cultivado com feijão-frade, apontando para valores normalmente obtidos na ordem dos 40-80 Kg N/ ha e de 70-350 Kg N/ha para uma taxa de fixação total de azoto com o contributo do feijão-frade (Singh et al., 1997).

2.2.8. Utilização e benefícios para a saúde

O feijão-frade está apto a diversas utilizações, pelo que as suas folhas jovens, as vagens verdes e os grãos verdes ou secos são habitualmente utilizados na alimentação humana, sendo a utilização dos grãos secos a mais frequente permitindo preparações variadas (Gerrano et al., 2017; Moreira et al., 2022; OCDE, 2019). Na alimentação animal e em aproveitamento dos resíduos da colheita, utiliza-se como forragem, feno e silagem, podendo no solo atuar como um fertilizante natural e como cultura de cobertura mantendo a sua produtividade (Gerrano et al., 2017; Moreira et al., 2022; OCDE, 2019).

O feijão-frade é uma leguminosa com papel crucial para a segurança alimentar mundial e para a saúde da população devido às suas propriedades nutricionais e nutracêuticas (Affrifah et al., 2022). A composição nutricional de feijão-frade assume uma importância relevante, pois esta é uma leguminosa consumida por milhões de pessoas que de outra forma não têm acesso a uma alimentação rica em proteínas, vitaminas e sais minerais (Timko et al., 2007). A variedade, as condições ambientais da zona de cultivo e as práticas agrícolas são fatores que influenciam a composição nutricional do feijão-frade (Affrifah et al., 2022).

Nutricionalmente, por 100 gramas, o feijão-frade Cara Verde, Cara Preta e Arroz apresentam respetivamente a seguinte composição: 138,70 Kcal /587,45 Kj, 141,67Kcal/599,60Kj; 134,96Kcal/571Kj de valor energético; 0,9g, 1,03g e 1,0 g de gordura; 22,95g, 22,43g e 22,46g de hidratos de carbono; 8,79g, 9,46g e 8,22g de proteína; 1,74g, 2,45g e 1,47g de fibra; 64,91g, 63,86g e 66,09g de humidade e 0,69g, 0,78g e 0,73g de cinzas (Beato et al., 2023).

2.2.9. Proteínas

O Feijão-frade é uma fonte concentrada de proteína, em que o seu grão completo contém 23-32% de proteínas, 5-60% de hidratos de carbono e menos de um por cento de gordura, considerando-se duas a quatro vezes mais proteico do que os cereais e os tubérculos e ainda um produto de menor custo de aquisição quando comparado com as proteínas de origem animal. (Affrifah et al., 2022; Hall, 2012; Trehan et al., 2015). O perfil proteico do feijão-frade inclui prolamina, globulina, gluteína e albumina (Affrifah et al., 2022). As proteínas predominantes no feijão-frade são a globulina presente num intervalo de 50 a 70% e a albumina entre 8,2 e 11,9% (Crizel et al., 2023).

2.2.10. Hidratos de carbono

O feijão-frade contém um teor significativo de hidratos de carbono, o que representa a maior parte do grão seco, estando presentes tal como em outras leguminosas, a rafinose e estaquinose, dois galacto-oligossacáridos de baixa digestibilidade e cujo seu teor pode diminuir ou eliminar-se pela demolha ou processamento do feijão (Affrifah et al., 2022). Os hidratos de carbono simples presentes no feijão-frade são a sacarose, maltose, frutose, glucose e galactose (Moreira, 2022).

2.2.11. Vitaminas e Sais minerais

O feijão-frade é uma importante fonte de vitaminas e sais minerais, com predominância da tiamina, a riboflavina e o ácido fólico, dos quais a vitamina C encontra-se presente em valores mais elevados nas folhas da planta de feijão-frade do que nos grãos (Affrifah et al., 2022; Crizel et al., 2023; OCDE, 2019). O fósforo, cobre, magnésio, ferro, cálcio, potássio são alguns dos minerais mais presentes no feijão-frade, estando em maior concentração nas folhas da planta e nos grãos verdes (Affrifah et al., 2022; Crizel et al., 2023).

2.2.12. Lípidos

O teor de lípidos no feijão-frade varia entre 0,5 e 3,9 %, com predominância para os triglicéridos, representando 41,2% da gordura total (OCDE, 2019). Pelo baixo teor em gorduras, o feijão-frade insere-se no grupo de leguminosas a incluir em dietas alimentares para perda de peso (Abebe & Alemayehu, 2022).

2.2.13. Compostos Bioativos

O grão de feijão-frade é rico em compostos bioativos, com 70% de compostos fenólicos livres na sua composição, os quais pelas suas propriedades anti-inflamatórias, anticancerígenas, hipolipídicas, hipoglicémicas e inibidoras de enzimas trazem largos benefícios para a saúde, contribuindo para reconhecer o feijão-frade como uma leguminosa de elevado interesse para a indústria alimentar no desenvolvimento de novos produtos e suplementos alimentares (Abebe & Alemayehu, 2022; Crizel et al., 2023).

2.2.14. Constituintes anti nutricionais

O feijão-frade tem na sua composição alguns constituintes com características anti-nutricionais como são exemplo: os oligossacáridos, ácido fítico, polifenóis, inibidores de proteases e lectinas (OCDE, 2019). Estes, são constituintes que estão presentes nas sementes e folhas do feijão-frade e o seu consumo pode resultar na acumulação de toxinas prejudicando o metabolismo e capacidade de normal funcionamento do sistema digestivo (Abebe & Alemayehu, 2022). Segundo (Gonçalves et al., 2016) o desenvolvimento de novas técnicas de produção alimentar que incluam processos como tratamento térmico, demolha, fermentação, entre outros pode contribuir para melhorar a composição nutricional deste leguminosa assim como a diminuir os constituintes anti-nutricionais. Estes constituintes têm para o feijão-frade e leguminosas no geral importância na proteção contra ataques de parasitas, fungos, insetos e herbívoros tornando-as mais resistentes a condições adversas (Crizel et al., 2023).

2.3. Fermentação

A fermentação é um processo milenar usado pelo homem que teve função preponderante na conservação de alimentos e da qual resultou a produção de uma grande diversidade de alimentos em todo o mundo (Abebe et al., 2015). O processo de fermentação pode ocorrer em condições anaeróbias ou aeróbias, pela ação de microrganismos com capacidade enzimática, as bactérias e as leveduras e compreende a conversão de açúcares em álcool, dióxido de carbono e/ou ácidos orgânicos para a produção de energia (Marco et al., 2021; Leeuwendaal et al., 2022). Neste processo, as bactérias são responsáveis pela fermentação láctica e as leveduras pela fermentação alcoólica. Em resultado da atividade microbiana na fermentação, a acumulação de álcool, ácidos orgânicos e o aumento da acidez leva à inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis e à redução da atividade enzimática, o que diminui a taxa de deterioração do alimento contribuindo para o aumento do seu período de vida útil (Chilton et al., 2015; Marco et al., 2021; Leeuwendaal et al., 2022).

2.3.1. Alimentos fermentados

Os alimentos fermentados podem definir-se como alimentos e/ou bebidas produzidos através da ação de microrganismos e nos quais a ação enzimática faz a conversão de determinados componentes. Como resultado da fermentação, os alimentos fermentados possuem um valor nutricional acrescido, adquirem uma diferente textura, características organolépticas e funcionalidades biológicas únicas, razão pela qual tem crescido nos últimos anos a tendência de associar o consumo deste tipo de alimentos a um impacto positivo ao nível da saúde e bem-estar (Ağagündüz et al., 2022; Diez-Ozaeta & Astiazaran, 2022; Dimidi et al., 2019).

Chilton et al., 2015 defende que os alimentos fermentados devem ser consumidos regularmente e integrar as diretrizes de uma dieta alimentar saudável. São o tipo de alimentos que uma vez constituídos por uma flora natural, facilmente o consumidor poderá considerá-los atrativos ao consumo sob a designação de “alimentos vivos”, pois utilizam ingredientes crus como matérias-primas, com pouca ou nenhuma adição de aditivos e são produzidos utilizando técnicas pouco complexas, muitas delas técnicas tradicionais e sustentáveis (Leeuwendaal et al., 2022).

Os alimentos fermentados poderão representar benefícios para a saúde em diversos aspectos, de forma combinada ou isolada, entre eles: o seu valor nutricional, com a presença de compostos bioativos em resultado da fermentação e o contributo para a promoção do crescimento da microbiota intestinal (Leeuwendaal et al., 2022).

2.3.2. Fermentações no feijão-frade

O feijão-frade é um alimento com grande potencial nutritivo, podendo os processos tecnológicos melhorar as suas características nutricionais. Embora o feijão-frade seja rico em proteínas, hidratos de carbono, vitaminas e minerais, tem também na sua constituição alguns compostos anti-nutricionais que podem interferir com a sua utilização nutricional (Kapraavelou et al., 2020). A fermentação nas leguminosas como o feijão-frade em combinação com outras tecnologias de processamento por ação da atividade enzimática dos microrganismos ajuda a reduzir os compostos anti-nutricionais disponibilizando as proteínas e os minerais que estes têm melhorando assim a qualidade nutricional desta leguminosa (Chawla et al., 2017; Affrifah et al., 2022).

2.4. Miso

O Miso é uma pasta semi-sólida produzida a partir de grãos de soja, fermentados com koji e sal (Kusumoto et al., 2021). O koji é preparado pela inoculação de arroz cozido a vapor com *Aspergillus oryzae* (Maheshwari et al., 2021).

Há cerca de 2500 anos, na China, teve origem a produção de uma pasta de soja de nome “Chiang” (Jiang), da qual a receita terá viajado para o Japão dando origem ao que hoje conhecemos como miso (Allwood et al., 2021; Shockey & Shockey, 2019). Segundo os dados históricos, um Monge Budista Chinês terá viajado para o Japão com a missão de aí disseminar o Budismo levando consigo a pasta de soja “Chiang” tendo posteriormente a mesma passado a chamar-se “Shi” (Shockey & Shockey, 2019). Só mais tarde, no livro de história Sandai Jitsuroku, publicado em 901 d.C., apareceu pela primeira vez a designação “miso” tendo passado essa a ser a designação utilizada em substituição da que fora adquirida até aí “misho” (Ebine Hideo, 2004) Em outras zonas da Ásia Oriental e no Sudeste Asiático produzem-se alimentos semelhantes com diferentes designações, por exemplo: “doenjang” na Coreia, “taucho” na Indonésia e

“tao-tsi” nas Filipinas. No Japão, 90% cento do miso é utilizado como ingrediente para sopa, sendo esta a forma mais tradicional para a sua utilização. O Miso evoluiu ao ser integrado na cultura alimentar japonesa abrindo possibilidade à produção de vários tipos de miso, variedade esta que reflete a diversidade regional quanto à disponibilidade de ingredientes e à variabilidade climática do país. (Ebine Hideo, 2004; Kusumoto et al., 2021).

A duração do processo de fermentação e a atividade microbiana presente no miso são fundamentais para a formação de sabores, texturas e características nutricionais. (Saeed et al., 2022). O miso caracteriza-se por ter sabores complexos resultantes do equilíbrio entre o doce, o salgado, o umami, a acidez, o amargo e a adstringência, o que atribui profundidade às preparações culinárias nas quais é utilizado (Kusumoto et al., 2021). Este é um produto que pode ser conservado e consumido durante vários anos, mantendo o aroma e a cor (Saeed et al., 2022).

Nutricionalmente, o miso é um alimento rico em proteínas, considerado uma fonte rica em minerais, como cobre, manganês, zinco e vitaminas, entre elas a vitamina E, K, vitaminas do complexo B e ácido fólico (Akhtar et al., 2021). Em resultado da fermentação estão presentes no miso, isoflavonas, aminoácidos, enzimas e pela rica composição nutricional, o seu consumo tem inúmeros benefícios associados como: facilitar a digestão, redução da tensão arterial, prevenção de doenças cardíacas e oncológicas, inibição da osteoporose, assim como a diminuição de algumas doenças degenerativas (Akhtar et al., 2021; Fukuda et al., 2017).

O Miso tem vindo a ganhar popularidade nos países ocidentais e recebido grandes atenções a nível mundial, estando a ser desenvolvidos vários estudos que possam aprofundar o conhecimento dos benefícios trazidos pelo consumo deste alimento (Allwood et al., 2023; Saeed et al., 2022).

Quanto à segurança alimentar e embora não seja comum a ocorrência de riscos associados ao consumo de produtos fermentados, assumindo-se a sua correta preparação, é importante que durante a produção sejam garantidas as condições de higiene e a utilização de matérias-primas de qualidade (Allwood et al., 2023). A vigilância das condições em que decorre a fermentação ajuda a promover o desenvolvimento de microrganismos desejáveis e a evitar a proliferação de microrganismos indesejáveis que ponham em causa a segurança alimentar do produto, como: *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, sendo para este efeito importante o conhecimento dos valores de pH, temperatura e atividade da água (a_w) neste produto (Adams & Moss, 2008; Hutkins, 2008; Zhou et al., 2014).

2.4.1. Tecnologia de produção de Miso

O método de produção de miso envolve duas fermentações sucessivas, sendo a primeira necessária para a produção de Koji e a qual implica que um substrato,

geralmente arroz, previamente demolhado, cozido a vapor e arrefecido seja inoculado com um fungo, o *Aspergillus oryzae* e posteriormente submetidos a uma temperatura de 30°C, por um período de 24 a 48 horas (Shurtleff, 2018; Allwood et al., 2021; Kusumoto et al., 2021). Para a segunda fermentação é utilizado o Koji adicionado de sal e água, posteriormente misturado com grãos de soja demolhados, cozidos e devidamente arrefecidos, os quais para que a fermentação ocorra e se obtenha o Miso, são colocados em repouso, à temperatura ambiente, num recipiente fechado, sem entrada de ar (Shurtleff and Aoyagi, 1980; Allwood et al., 2021; Kusumoto et al., 2021).

É possível produzir três tipos de miso consoante o tipo de ingredientes utilizados: miso de arroz – produzido com arroz, grãos de soja e sal; miso de cevada – produzido com cevada, grãos de soja e sal; miso de soja – produzido com grão de soja e sal (Ebine Hideo, 2004). O miso pode classificar-se quanto ao sabor (adocicado, doce ou salgado) e à cor (branco, amarelo ou vermelho), ambas características que variam de acordo com a proporção de ingredientes adicionados e qual influencia também o tempo de fermentação (Ebine Hideo, 2004; Kusumoto et al., 2021; Shockey & Shockey, 2019). Assim, a produção de miso com maior proporção de Koji do que grãos de soja e sal proporciona uma fermentação mais rápida da qual resulta um miso de sabor doce e cor clara, ao passo que a mistura de ingredientes com menor proporção de Koji e maior proporção de grãos de soja e sal leva a uma fermentação mais lenta, obtendo um miso de sabor mais salgado e cor mais escura. (Ebine Hideo, 2004; Kusumoto et al., 2021; Shockey & Shockey, 2019).

O sabor e a cor do miso vão-se intensificando à medida que a fermentação se prolonga, período que pode durar entre as três, quatro semanas até aos doze meses, chegando mesmo em algumas produções aos nove anos, atingindo-se nestes casos uma complexidade de sabores, conhecidos como “umami” e uma cor densa e escura resultante das reações de Maillard que ocorrem durante este período (Shockey and Shockey, 2019)

O miso, no fim da sua produção é considerado um produto estável e com um tempo de vida útil longo que pode chegar aos 6 meses quando conservado à temperatura ambiente, também com a vantagem de ter um baixo custo de produção, uma vez que não são necessários ingredientes nem equipamentos dispendiosos para o produzir (Ebine Hideo, 2004).

3. Materiais e métodos

Este trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento de um novo produto, uma pasta miso, para a qual se utilizou o feijão-frade em substituição dos grãos de soja, habitualmente utilizados. Todo o trabalho foi desenvolvido no Centro de Apoio Tecnológico Agroalimentar em Castelo Branco, na Unidade Piloto de Hortofrutícolas, laboratórios de Microbiologia, Físico-Química e Análise Sensorial.

3.1. Matérias-primas

A matéria-prima selecionada para o desenvolvimento do miso foi o feijão-frade, especificamente duas variedades de feijão-frade locais, provenientes da Lardosa, o feijão-frade cara verde e o feijão-frade arroz (figura 1).



Figura 1 - Feijão-frade da Lardosa, variedade Cara Verde (esquerda) e variedade Arroz(direita).

No processo de desenvolvimento da pasta miso foram também utilizados: Arroz branco agulha (Cigala), flor de sal (Marnoto), Koji de arroz comercial (Kenshō), esporos de *Aspergillus oryzae* (Kenshō), água mineral (SONAE) (figura 2).



Figura 2 - Materiais utilizados no processo de desenvolvimento do miso: Arroz branco agulha (Cigala), Flor de Sal (Marnoto), Koji de arroz comercial (Kenshō),Esporos de *Aspergillus oryzae* (Kenshō).

3.2. Metodologias aplicadas

O desenvolvimento da pasta miso seguiu duas metodologias de produção diferentes: metodologia 1- Pasta miso com base em Koji de arroz comercial (Kenshō) e metodologia 2- Pasta miso com base em arroz inoculado com esporos de *Aspergillus oryzae* (Kenshō). Em ambas as metodologias aplicadas se utilizaram as variedades de feijão-frade cara verde e feijão-frade arroz originando a produção de duas pastas por metodologia.

3.3. Desenvolvimento de pasta miso com base em Koji de arroz comercial (metodologia 1)

O feijão foi pesado (Ohaus-Fd, Series), lavado em água corrente e cozido a 100° C, em água mineral (pH=6,4) utilizando uma Vorwerk (TM5). O feijão-frade cara verde cozeu durante 40 minutos e o feijão-frade arroz de 38 minutos. O tempo de cozimento estabeleceu-se por observação até que o feijão adquirisse uma consistência macia. Após esta etapa, o feijão foi escorrido fazendo-se o devido aproveitamento das respectivas águas resultantes do cozimento (figura 3). Todos os produtos foram acondicionados e sujeitos a arrefecimento (ProFline, Liebherr) até atingirem uma temperatura de 30°C.

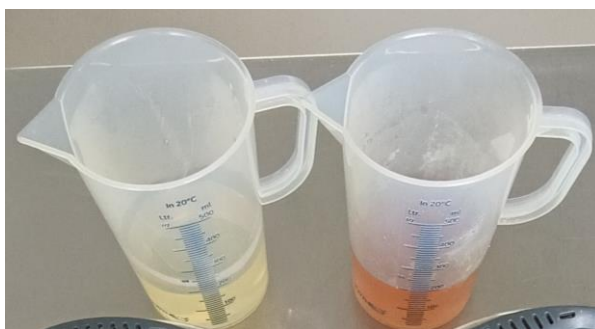


Figura 3 - Águas resultantes de cozedura do feijão-frade variedade Arroz(esquerda) e feijão farde variedade cara verde (direita).

As duas variedades de feijão-frade foram trituradas separadamente, utilizando-se uma Vorwerk (TM5). Em seguida, foi adicionado a cada triturado de feijão-frade (15%), o preparado de koji (50%), sal (4%) e água de cozedura (32%), os ingredientes foram misturados durante 10 minutos, à velocidade 0,5 até obter uma pasta homogênea e moldável.

Ambas as pastas foram pesadas e embaladas a vácuo (VP 430.20, AK Ramon) identificadas e colocadas a fermentar em estufa (BD115, Binder), a 25±1°C por um período durante 28 dias(figura4).



Figura 4 - Esquema de desenvolvimento de pasta miso de base em feijão-frade cara verde e arroz utilizando Koji de arroz (metodologia 1).

3.4. Desenvolvimento de pasta miso com base em arroz inoculado com esporos de *Aspergillus oryzae* (metodologia 2)

Para a produção de koji, utilizou-se de arroz branco agulha (Cigala) o qual foi sujeito a lavagens sucessivas em água corrente até obter uma água de lavagem límpida. Em seguida, procedeu-se ao escorrimento do arroz, tendo sido depois colocado em água mineral (pH=6,4) a demolhar por um período de 6 horas. Posteriormente, o arroz foi escorrido e cozido a vapor Vorwerk (TM5) durante 35 minutos. O cozimento do arroz foi controlado de modo que os grãos de arroz no fim desta operação apresentassem uma consistência macia, mas sem que estruturalmente a sua forma se alterasse. O arroz foi acondicionado e arrefecido em refrigeração (ProFline, Liebherr) até atingir 30°C.

Inoculou-se o arroz cozido com *Aspergillus oryzae* (Koji Kin - Kenshō) numa proporção de 0,1/100g. O arroz inoculado foi incubado (Binder KBF 240, E5.2) a uma temperatura de 30±1°C e 75±5%HR durante 96 horas. A cada 12 horas procedeu-se ao revolvimento do preparado, de forma a quebrar os micélios e promover a sua melhor propagação, dispondo-o em amontoados lineares, aumentando a superfície de contacto e expondo o maior número de grãos ao arejamento da estufa (figura 5). Completas as 96 horas de incubação, fez-se uma inspeção visual ao Koji. Observou-se a formação de micélios a unir os grãos de arroz de aspeto esbranquiçado, com cheiro característico.



Figura 5 - Disposição do arroz em amontoados lineares revolvidos a cada 12 horas para melhor propagação dos micélios (A), início da aglomeração do arroz (B) arroz finalizado com 96 horas de incubação (C).

Após conclusão da etapa da formação de arroz koji (figura 6), a segunda fase do processo nesta metodologia foi similar à metodologia anterior (figura 7). O feijão foi pesado (Ohaus-Fd, Series) lavado e cozido a 100°C em água mineral (pH=6,4) utilizando uma Vorwerk (TM5). O feijão e as águas resultantes do cozimento foram acondicionados e arrefecidos (ProFline, Liebherr) até atingirem uma temperatura de 30°C.

As duas variedades de feijão-frade foram trituradas separadamente, utilizando-se uma Vorwerk (TM5). Em seguida, foi adicionado a cada triturado de feijão-frade (15%), o koji produzido com *Aspergillus oryzae* (50%), sal (4%) e água de cozedura (32%), os ingredientes foram misturados durante 10 minutos, à velocidade 0,5 até obter uma pasta homogênea e moldável.

Já com a consistência pretendida, ambas as pastas foram pesadas e embaladas a vácuo (VP 430.20, AK Ramon), identificadas e colocadas a fermentar em estufa (BD115, Binder) a 25±1°C, por um período durante 28 dias (figura 7).



Figura 6 - Esquema de obtenção do Koji de Arroz inoculado com *Aspergillus oryzae* (metodologia 2).



Figura 7 - Esquema de desenvolvimento de pasta miso de base em feijão-frade cara verde e arroz utilizando Koji de arroz obtido por inoculação com *Aspergillus oryzae* (metodologia 2).

4. Metodologias para avaliação dos produtos desenvolvidos

As pastas de miso desenvolvidas foram avaliadas quanto a critérios microbiológicos, físico-químicos e sensoriais nos Laboratórios do CATAA – Centro de Apoio Tecnológico Agroalimentar de Castelo Branco. Estas pastas foram preparadas sob a forma de caldo/sopa de modo a representarem a forma como convencionalmente são consumidas pelo consumidor final.

Para a realização das diferentes análises aplicou-se a seguinte metodologia na preparação e identificação de amostras:

- Pasta Miso desenvolvidas com base em Koji de arroz comercial (M1) (figura 8).
 - Pasta Miso com base em Feijão-frade Cara Verde (CV).
 - Pasta Miso com base em Feijão-frade Arroz (A).

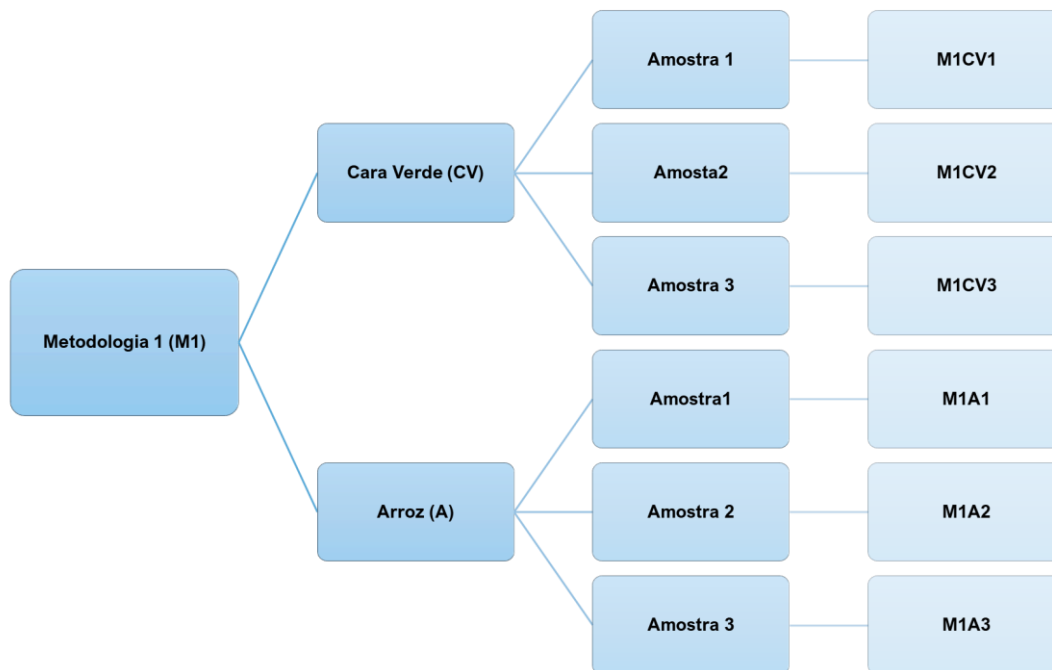


Figura 8 - Esquema de preparação e identificação de amostras para avaliação em laboratório das pastas miso desenvolvidas segundo a Metodologia 1.

- Pasta Miso desenvolvidas com base em arroz inoculado com esporos de *Aspergillus oryzae* (M2)(figura 9).
 - Pasta Miso com base em Feijão-frade Cara Verde (CV).
 - Pasta Miso com base em Feijão-frade Arroz (A).

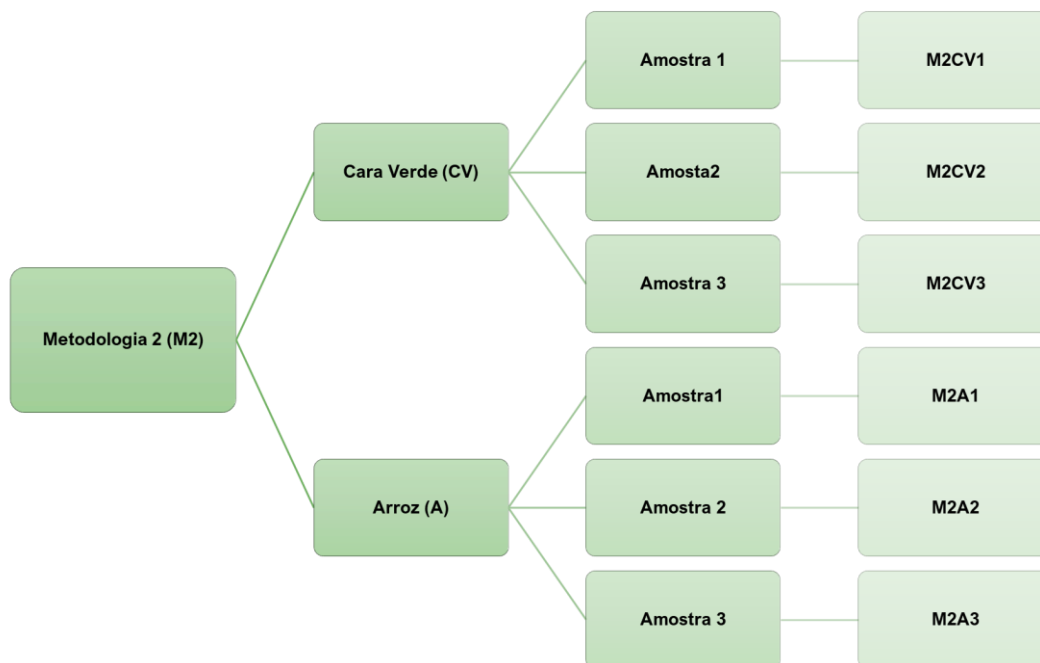


Figura 9 - Esquema de preparação e identificação de amostras de caldo/sopa miso para avaliação em laboratório das pastas miso desenvolvidas segundo a Metodologia 2.

Para cada pasta miso (figura 10) foram preparadas 3 amostras de caldo/sopa de pasta Miso (figura 11). Para cada uma foi realizada uma diluição de 116g/L de água mineral (pH=6,4) previamente fervida Vorwerk (TM5), procedendo-se em seguida à respetiva identificação.

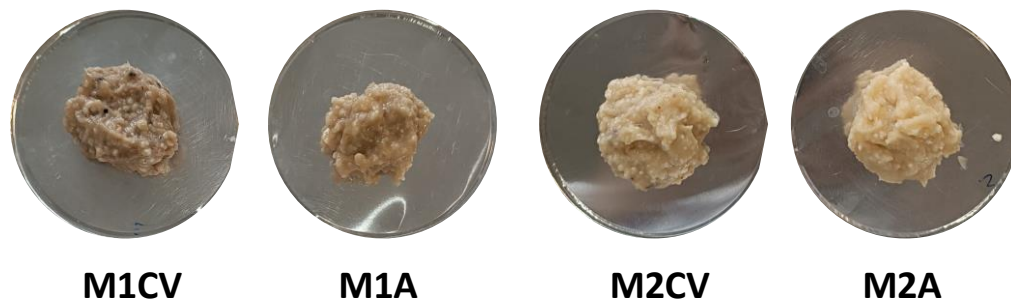


Figura 10 - Diferentes amostras de pasta miso após a fermentação M1CV (Metodologia 1 Cara Verde); M1A (Metodologia 1 Arroz); M2CV (Metodologia 2 Cara Verde); M2A (metodologia 2 Arroz).



Figura 11-preparação de amostras de caldo/sopa miso para as diferentes avaliações laboratoriais de acordo com os esquemas anteriores (Figura 8 e 9).

4.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas são realizadas a produtos alimentares a fim de determinar a sua aceitação ou aceitação do seu processo de produção quanto à presença ou ausência de microrganismos e/ou respectivas toxinas/metabolitos. Para o efeito são aplicáveis critério de segurança aos produtos alimentares colocados no mercado e critérios de higiene ao processo de produção atestando se o mesmo decorreu em boas condições de higiene. No seu conjunto as análises microbiológicas atestam se um determinado produto alimentar é seguro para consumo ou se haverá medidas a ser tomadas garantam a conformidade do processo de obtenção (Regulamento (CE) nº 2073/2005).

Neste trabalho aplicaram-se metodologias de análise microbiológicas definidas pela International Organization for Standardization (ISO) para os seguintes parâmetros: Contagem de microrganismos a 30°C, contagem de bolores e leveduras,

contagem de *Clostridium perfringens*, contagem de *Bacillus cereus*, contagem de *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva, pesquisa de *Salmonella spp.*, pesquisa de *Listeria monocytogenes* e Aflotoxinas (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros microbiológicos realizados aos vários tipos de miso desenvolvido e respectivas referências dos métodos aplicados.

Parâmetro microbiológico	Referência do método de análise
Contagem de microrganismos a 30°C	ISO 4833-1:2013
Contagem de <i>Bolores e leveduras</i>	ISO 21527 -2:2008
Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>	ISO 7937:2004
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	ISO 7932:2004
Contagem de <i>Escherichia coli</i> β -glucuronidase positiva	ISO 16649-2:2001
Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	ISO 6579:2017
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-1:2017
Aflotoxinas	LC-MS-MS

Com base na consulta dos valores guia para interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, as amostras de miso em avaliação podem englobar-se no grupo 1 – Produtos alimentares prontos a consumir e subgrupo 1A - Alimentos totalmente cozinhados não manuseados após o tratamento térmico (INSA, 2019). Os resultados obtidos apresentaram-se em unidades formadoras de colónias por grama de amostra (ufc/g). Especificamente para os parâmetros de deteção de *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes* os resultados apresentaram-se como “detetado” ou “não detetado” e para a determinação de Aflotoxinas os resultados expressaram-se em microgramas por Kilograma ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) de acordo com o (Regulamento (UE) nº1881/2006) . No Anexo A são apresentados os valores de referência para os parâmetros analisados.

4.2. Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas são essenciais para a quantificação dos diferentes constituintes dos géneros alimentícios contribuindo para a garantia da qualidade e segurança dos mesmos, melhoria dos processos, sendo determinante para a correta rotulagem dos produtos alimentares (Baianu, 2011)

4.2.1. pH

A medição de pH foi realizada segundo método interno PT.LFQ.0126 recorrendo ao potenciómetro (Consort C861), munido de um eléctrodo (Consort EE9) e com a sonda de temperatura (Consort DD6).

4.2.2. Atividade da água (a_w)

Para determinação da atividade da água (a_w) foi seguido o método interno PT.LFQ.0136. Utilizou-se um higrómetro HygroPalm (HP 23, Rotronic) previamente calibrado a 25 °C.

4.2.3. Humidade

O teor de humidade foi determinado seguindo o método interno PT.LFQ. 0135. Utilizou-se o método gravimétrico que se baseia na secagem da amostra a 70°C (sob vácuo) por um período de 4 horas, até peso constante com recurso a uma estufa (Binder, VDL 115). Os resultados são expressos em $g.100g^{-1}$.

4.2.4. Teor de Cinzas

A determinação do teor de cinzas seguiu o método interno PT.LFQ.0106. Utilizou-se o método gravimétrico segundo o qual as amostras são sujeitas a carbonização e incineração a uma temperatura de 550 ± 25 °C (Mufla Lenton SAF11/1). Os resultados são expressos em $\%(m/m)$ de amostra.

4.3. Composição Nutricional

4.3.1. Valor energético

Determinou-se o valor energético das amostras considerando o teor de lípidos (9 kcal g⁻¹ – 37 kJ g⁻¹), de hidratos de carbono (4 kcal g⁻¹ – 17 kJ g⁻¹) e de proteína (4 kcal g⁻¹ – 17 kJ g⁻¹) aplicando as fórmulas (Regulamento (UE) nº 1169/2011):

Valor energético em kcal = 9 × lípidos + 4 × Hidratos de carbono + 4 × Proteína

Valor energético em kJ = 37 × lípidos + 17 × Hidratos de carbono + 17 × Proteína.

Os resultados apresentam-se em Kcal e KJ por 100 g de produto.

4.3.2. Lípidos

Para determinação do teor de lípidos seguiu-se o método interno PT.LFQ.0104 d. Esta determinação consistiu na hidrólise com uma solução de ácido clorídrico (Soxcap, FOSS), procedendo-se em seguida a uma filtração e lavagem. Fez-se depois a extração da gordura total com éter de petróleo (Soxtec System 2047, FOSS) e por fim eliminou-se o solvente por evaporação, secagem e pesagem do extrato. Os resultados apresentam-se em g.100g⁻¹.

4.3.3. Hidratos de carbono

A determinação de Hidratos de carbono realizou-se segundo as orientações expressas no Regulamento (UE) nº1169/2011 e para a qual foi necessário considerar o teor de humidade, lípidos, proteína e cinzas na aplicação da fórmula:

Hidratos de carbono = 100 – Humidade (%) – Gordura (%) – Proteína (%) – Cinzas (%)

Os resultados expressam-se em g/100g.

4.3.4. Açúcares

A determinação de açúcares (glucose, frutose, sacarose, lactose e maltose) foi feita seguindo o método interno PT.LFQ. 0129.

Fez-se uma extração com água, seguida de centrifugação e remoção de interferentes numa coluna de extração em fase sólida (SPE-C18, 500 mg 10 mL⁻¹). Em seguida procedeu-se à quantificação dos açúcares por cromatografia iónica (ICS-3000, Dionex), com detetor eletroquímico e software Chromeleon. Foi utilizada uma coluna CarboPac PA20 (3×150 mm), uma pré-coluna CarboPacGuard (3×30 mm), duas fases móveis

(200 mM de NaOH e 15 mM de NaOH) e um fluxo 0,5 ml/min. Os resultados obtidos para cada açúcar expressam-se em g.100g⁻¹.

4.3.5. Proteína

Para determinação do teor de Proteína foi seguido o método interno PT.LFQ.0143 (Kjeldahl). Em meio ácido, na presença de uma mistura catalisadora (Kjeltabs Cu/3,5) e a quente a amostra sofre uma mineralização ocorrendo a conversão do azoto orgânico em ião amônio e este por sua vez converte-se em amoníaco pela adição de hidróxido de sódio. O amoníaco foi destilado em corrente de vapor e recolhido com ácido bórico, sendo depois titulado com ácido clorídrico em concentração conhecida para quantificação de azoto total (Kjeltec 8400, FOSS).

O teor de proteína é determinado pela equação:

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ azoto} \times F$$

Em que F é o fator de conversão de azoto em proteína, que corresponde a 6,25 (géneros alimentícios) O resultado é apresentado em g.100g⁻¹.

4.3.6. Sódio

A determinação do teor de sódio foi efetuada segundo o método interno PT.LFQ.0114. As amostras foram digeridas num sistema de digestão por micro-ondas (Ethos One, Milestone) e em seguida quantificadas por espectrofotometria de absorção atômica (ICE3000 Thermo Scientific com software SOLLAR M). Os resultados apresentam-se em mg.100 g⁻¹.

4.4. Análise sensorial

Segundo (Lawless and Heymann, 2010), a análise sensorial compreende um conjunto de técnicas que medem de forma exata as reações humanas aos alimentos, minimizando os possíveis efeitos influenciadores que a identidade da marca e outros têm na perceção do consumidor. Informações como a textura, sabor e aspeto de um determinado alimento, recolhidas pela aplicação da análise sensorial são de extrema utilidade para o desenvolvimento de novos produtos alimentares, ajudando a detreminar à sua aceitação ou não aceitação pelo consumidor (Lawless & Heymann, 2010; Ruiz-Capillas & Herrero, 2021).

Existem diversas provas sensoriais às quais os produtos alimentares podem ser submetidos considerando o tipo de informação que é pretendido recolher. Em específico, a prova hedónica ou afetiva é muito utilizada na área de desenvolvimento e lançamento de novos produtos no mercado, uma vez que permite captar uma primeira reação do consumidor face a um produto, indicando o seu grau de satisfação, o que

melhora o conhecimento das características do produto e o entendimento do potencial de aceitação que o produto poderá vir a ter no mercado (Conceição, 2020).

A prova hedónica pode dividir-se em testes de aceitação e testes de preferência (Alvelos, 2002). No caso específico dos testes de aceitação, estes realizam-se com o objetivo de conhecer o grau de aceitação de um produto pelo consumidor, usando uma escala hedónica numérica de 5 a 9 pontos através da qual o consumidor expressa a sua reação em relação ao produto. A escala numérica mais usada é a de 9 pontos, a qual pode utilizar expressões como “gostei muitíssimo”, “desgostei muitíssimo”, contemplando sempre um ponto intermédio como “nem gostei nem desgostei” (Alvelos, 2002; Carmo, 2018). Nos testes de aceitação é possível utilizar um produto de referência bem aceite no mercado e fazer uma avaliação simultânea com o produto que é objetivo de testagem, permitindo assim verificar a aceitação entre ambos e estabelecer uma comparação (Alvelos, 2002). Os provadores devem ser consumidores voluntários, não treinados para obtenção de reações espontâneas. As amostras apresentadas devem estar sob a sua forma habitual de consumo e identificadas com um código de três dígitos aleatório criado pelo laboratório (ISO 11136:2014).

Neste tipo de testes sensoriais requer-se o recrutamento mínimo de 60 provadores, no entanto, caso o local de realização dos testes de aceitação seja o laboratório, dotado de equipamentos e condições controladas poderão aceitar-se entre 25 a 50 provadores (Conceição, 2020; ISO 11136:2014; Mammasse & Schlich, 2014)

Para a avaliação sensorial das amostras de miso desenvolvidas neste trabalho realizou-se uma prova hedónica, através de um teste de aceitação e recorreu-se a um painel de provadores não treinados. A prova realizou-se no Laboratório de Análise Sensorial do CATAA, concebido de acordo com as especificações definidas na ISO 8589 (2007/Amd 1 2014).

Foram avaliadas as quatro amostras de miso desenvolvidas (M1CV, M1A, M2CV 2 M2A) e uma amostra de controlo (C) de miso tradicional com base em soja disponível no mercado (Miso, Blue Dragon). A avaliação sensorial foi realizada por um painel de 30 provadores não treinados, 70% do género feminino e 30% do género masculino, com uma média de idades de $34,47 \pm 10,64$ anos, aos quais as amostras foram disponibilizadas de forma aleatória, devidamente identificadas por código de 3 dígitos e apresentadas sob a forma de caldo/sopa, pois é esta a forma mais usual de consumo do miso. A prova consistiu na avaliação dos atributos aspeto, sabor, aroma, textura e apreciação global, numa escala numérica de 9 pontos, em que os valores numéricos da escala correspondem aos extremos 1- Extramente desagradável e 9- Extremamente agradável, sendo 5 – Indiferente, o ponto intermédio.



Figura 12 - Preparação de amostras de miso para prova sensorial (A), amostras e identificação do miso em copo de prova (B) desenvolvimento da prova sensorial(C).

5. Análise estatística

Os resultados apresentados foram tratados estatisticamente aplicando análise de variância ANOVA e um teste de comparação Tukey através do GraphPad Prism versão 10.3.1 para Windows (GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA).

6. Resultados e Discussão

6.1. Análise Microbiológicas

Na produção de miso, o pH e a_w são parâmetros importantes que interferem diretamente com a sua segurança e estabilidade, para além de ajudarem e selecionar as metodologias de análise a seguir para alguns parâmetros microbiológicos.

Determinado o pH nas amostras de miso em análise verifica-se que para M1CV, M1A e M2CV não apresentam diferenças significativas, sendo M2A a amostra que apresenta um valor de pH mais elevado comparativamente com as restantes. O processo de fermentação do Miso leva a uma descida do pH, favorável ao crescimento de leveduras que produzem etanol e este em combinação com ácidos orgânicos leva à obtenção de ésteres necessários ao sabor e odor característicos e distintivos do miso (Allwood et al., 2021b). Segundo (Shukla et al., 2011), o miso de arroz japonês apresenta um pH entre 4,9 e 5,3. Relacionando os resultados obtidos com os valores citados é possível perceber que as amostras M1CV, M1A e M2CV se enquadram no padrão de pH expectável para a produção de Miso, à exceção da amostra M2A que apresentando valor um pouco acima de 5,3.

A Atividade da água (a_w) determina a quantidade de água livre que existe num alimento, esta varia entre 0 e 1 e pode constituir uma limitação para segurança alimentar (Adams & Moss, 2008; Allwood et al., 2021b). No miso, a adição de sal ajuda a uma redução do a_w , o que favorece a inibição do desenvolvimento de bolores e bactérias indesejadas (Allwood et al., 2021). Nas quatro amostras de miso, os valores de a_w não apresentam diferenças significativas entre si.

Os resultados apresentados na tabela 2 para as análises microbiológicas realizadas às amostras de miso, comprovam que a segurança alimentar do produto não foi afetada, pois as contagens de microrganismos a 30°C, Bolores, Leveduras, *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus*, e microrganismos estão abaixo dos respetivos valores de referência. Para *salmonella spp* e *Listeria monocytogenes* não foi detetada presença em qualquer uma das amostras em avaliação. Na deteção de aflotoxinas, os resultados obtidos encontram-se abaixo o teor máximo estabelecido.

Tabela 2 - Resultados de parâmetros de estabilização e determinações microbiológicas das diferentes amostras de miso em avaliação.

Parâmetros analisados	Amostras de Miso			
	M1CV	M1A	M2CV	M2A
pH	4,86±0,04 ^A	4,99±0,07 ^B	4,79±0,09 ^{BC}	5,71±0,02 ^C
a _w	0,97±0,00 ^A	0,96±0,00 ^A	0,99±0,01 ^A	0,98±0,00 ^A
Microrganismos a 30 °C	<10	<10	<10	<10
Bolores	<10	<10	<10	<10
Leveduras	<10	<10	<10	<10
<i>Escherichia coli</i> β-glucuronidase positiva	<10	<10	<10	<10
<i>Clostridium perfringens</i>	<10	<10	<10	<10
<i>Bacillus cereus</i>	<10	<10	<10	<10
Pesquisa de <i>Salmonella spp</i>	Não detetado em 25g.	Não detetado em 25g.	Não detetado em 25g.	Não detetado em 25g.
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetado em 25g.	Não detetado em 25g.	Não detetado em 25g.	Não detetado em 25g.
Aflotoxinas (B1+B2+G1+G2)	<1	<1	<1	<1

Média ± desvio padrão (n=2). Em cada linha, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas para um nível de significância de 0,05 utilizando o teste de Tukey.

6.2. Análise Físico química

Na tabela 3 apresentam-se os resultados obtidos com a realização das análises físico-químicas para obtenção da informação relativa à composição nutricional das amostras de miso em avaliação. De acordo com os valores obtidos é possível verificar que não existem diferenças significativas entre as amostras quando comparadas entre elas.

Tabela 3 - Composição nutricional comparativa entre as diferentes amostras de miso desenvolvidas

Parâmetros analisados	Unidades/ 100 g. de alimento	Amostras de Miso			
		M1A	M1CV	M2CV	M2A
Energia	Kj	89,93±5,28	91,46±6,16	85,94±2,01	94,78±1,88
Energia	Kcal	21,16±1,24	21,52±1,45	20,22±0,47	22,30±0,44
Lípidos	g	≤LQ	≤LQ	≤LQ	≤LQ
Hidratos de Carbono dos quais açúcares	g	4,64±0,29	4,77±0,35	4,47±0,12	4,98±0,10
Proteínas	g	0,68±0,03	0,63±0,03	0,60±0,01	0,62±0,02
Sal	g	0,35±0,03	0,37±0,02	0,33±0,01	0,35±0,05
Humidade	g	94,37±0,27	94,34±0,37	94,63±0,08	94,17±0,11
Cinzas	g	0,32±0,05	0,26±0,04	0,31±0,06	0,24±0,06

Média ± desvio padrão (n=3); ≤ LQ: menor ou igual ao limite de quantificação (0,3).

Os resultados revelam que as amostras de miso apresentam um baixo valor energético, uma vez qualquer uma das amostras apresentam valores energéticos inferiores a 40 Kcal (170kj) /100g, (Regulamento (CE) nº1924/2006). Quanto ao teor de lípidos, todas as amostras obtiveram valores inferiores ao limite de quantificação (0.3g/100g) demonstrando que o produto pode ser considerado “sem gordura” e “sem gorduras saturadas” e “sem adição de açúcares” (Regulamento (CE) nº1924/2006).

6.3. Análise Sensorial

Sendo o miso um produto ainda relativamente desconhecido pelos consumidores, a prova sensorial realizou-se utilizando como amostra de controlo (C) uma sopa miso existente no mercado de base em soja (Miso, Blue Dragon). Segundo os resultados obtidos, expressos na tabela 4, pode verificar-se que quanto ao **aspeto**, a amostra de controlo (C) foi a que obteve valor mais elevado, não apresentando diferenças significativas em relação às amostras M2 (M2CV e M2A), mas apresenta diferenças significativas relativamente às amostras M1 (M1CV e M1A). No **sabor** o valor inferior obtido foi o M1CV, a amostra intermédia é a M1A, enquanto M2CV e M2A não diferem entre si nem da amostra de controlo (C). O **aroma** não apresenta diferenças significativas entre as amostras M1 (M1CV e M1A) e M2 (M2CV e M2A) exceto quando comparadas com a amostra de controlo (C). As amostras M1 (M1CV e M1A) apresentam **texturas** semelhantes entre elas, as amostras M2 (M2CV e M2A) são intermédias neste atributo, não diferem das amostras M1 (M1CV e M1A) e do controlo (C).

Tabela 4 - Resultados dos atributos avaliados na prova hedónica (1 extremamente desagradável a 9 extremamente agradável) de um miso de controlo e das amostras de miso desenvolvidas

Atributos	Amostras				
	Controlo	M1		M 2	
	C	M1CV	M1A	M2CV	M2A
Aspeto	6,03±1,80 ^A	4,10±1,47 ^B	4,77±1,84 ^B	5,30±1,68 ^{AB}	5,13±1,67 ^{AB}
Sabor	6,40±1,98 ^A	4,30±2,07 ^C	3,87±1,86 ^{BC}	5,48±1,51 ^{AB}	5,40±1,94 ^{AB}
Aroma	6,33±1,74 ^A	4,37±2,04 ^B	4,17±1,65 ^B	5,03±1,35 ^B	5,10±1,83 ^{AB}
Textura	6,27±1,82 ^A	4,56±2,14 ^B	4,87±1,67 ^B	4,87±1,81 ^{AB}	5,47±1,56 ^{AB}
Global	6,43±1,82 ^A	4,43±1,99 ^{BC}	4,20±1,62 ^C	5,33±1,37 ^{AC}	5,50±1,75 ^{AB}

Média ± desvio padrão (n=30). Em cada linha, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas para um nível de significância de 0,05 utilizando o teste de Tukey.

7. Considerações Finais

O Miso produzido com base em feijão-frade cara verde e feijão-frade arroz segundo as duas metodologias aplicadas neste trabalho, enquadra-se na categoria dos Misos de arroz, uma vez que na sua formulação foi utilizada uma maior percentagem de Koji de arroz (50%) do que de sal (4%) e feijão-frade (15%) induzindo assim uma fermentação mais rápida, com duração de 28 dias.

A análise de resultados permitiu verificar que a avaliação microbiológica feita às amostras de miso valida as duas metodologias aplicadas para produção de miso com ambas as variedades de feijão-frade, atestando que as mesmas decorreram em boas condições de higiene e que os produtos delas resultantes são seguros e estáveis. As amostras avaliadas apresentaram valores abaixo dos valores de referência para todos os parâmetros microbiológicos analisados, incluindo para o teor de aflatoxinas.

Nutricionalmente, todas as amostras de miso produzidas com base em feijão-frade cara verde e feijão-frade arroz apresentaram um baixo valor energético, um baixo teor de lípidos podendo designar-se como produto “sem gordura” e “sem gorduras saturadas”. Considerando que durante o seu processo de obtenção não houve qualquer adição de açúcar poderá também acrescentar-se a designação “sem adição de açúcares”, designações que podem tornar este produto apelativo ao consumo.

Na análise sensorial realizada segundo uma prova hedónica com teste de aceitação, utilizou-se miso existente no mercado como amostra controlo de forma a criar um grau comparativo entre as amostras desenvolvidas em avaliação e um produto já comercialmente aceite. Os resultados obtidos revelam que não há diferenças significativas entre as amostras de miso desenvolvidas, no entanto as amostras com maior semelhança à amostra de controlo (C) foram as da metodologia 2 (Pasta miso desenvolvida com base em arroz inoculado com esporos de *Aspergillus oryzae* para as variedades de feijão-frade cara verde e feijão-frade arroz), sendo que dentro desta metodologia, a amostra M2A (miso com base em arroz inoculado com esporos *Aspergillus oryzae* para a variedade de feijão-frade arroz) é a que mais se aproxima da amostra de controlo. Assim, e uma vez que o arroz é um ingrediente predominante nas formulações utilizadas para a produção das diferentes amostras de miso, pode entender-se que a utilização de arroz inoculado com *Aspergillus oryzae* terá tido uma influência positiva nas características finais dos produtos, quando comparado com o Koji de arroz comercial, desencadeando uma fermentação benéfica para a aquisição de propriedades organolépticas características do miso como a cor, a textura e aroma.

Com a realização deste trabalho demonstra-se que é possível produzir um miso com recurso a ingredientes nacionais como o arroz e o feijão-frade em substituição dos grãos de soja. Comprova-se que tanto o feijão-frade cara verde como o feijão-frade arroz são versáteis do ponto de vista da utilização no desenvolvimento de novos produtos alimentares. Ambos mostram aptidão para a produção de alimentos fermentados da tipologia do miso, o que acrescenta mais um contributo para o

aumento do seu impacto nacional e regional para além das já conhecidas características nutricionais, capacidade de enriquecimento do solo, resistência à seca e utilização da planta para alimentação animal.

Este trabalho poderá constituir um passo para a exploração de diferentes tipos de fermentações com produtos endógenos nacionais. No futuro, poderão vir a desenvolver-se novas experimentações a partir do miso com base em feijão-frade. A realização de testes sensoriais descritivos poderão auxiliar o aperfeiçoamento das formulações de arroz e feijão utilizadas, de modo a alcançar uma complexidade de sabores adaptados ao público português, contribuindo para um melhor acolhimento e consensualização no consumo de miso em Portugal.

Ao miso tradicional reconhece-se um conjunto de características nutricionais, constituintes bioativos, aminoácidos, vitaminas e minerais que representam benefício para saúde do consumidor a diversos níveis como digestão, controlo da tensão arterial, prevenção de doenças oncológicas e cardíacas. Assim, este trabalho poderá dar origem a uma avaliação dos benefícios associados ao consumo de Miso com base em feijão-frade, ajudando a fundamentar a viabilidade de novas formas de valorização económica desta leguminosa. Num momento em que se aposta na sustentabilidade e na construção de sistemas alimentares saudáveis, privilegiando alimentos locais e sazonais, este é um produto alimentar que pelas matérias primas utilizadas, processo produtivo, características e benefícios associados ao seu consumo, vai claramente ao encontro do que atualmente são as tendências de inovação e consumo de produtos alimentares, nas quais se identificam: produtos com ingredientes estrela, produtos de base vegetal, produtos pré-preparados, produtos que contribuam para a manutenção da saúde e bem estar, entre outros. Ao relacionar as tendências mencionadas com o miso desenvolvido no âmbito deste trabalho, poder-se-á considerar tratar-se de um produto com potencial válido para o mercado e seus consumidores, fomentando uma maior disponibilidade de soluções e alternativas alimentares saudáveis, mais próximas e também mais sustentáveis.

8. Referências Bibliográficas

2024: dez tendências do setor agroalimentar. 2024. IAlimentar - Informação Profissional para a Indústria Alimentar. Available from: <https://www.ialimentar.pt/Artigos/539472-2024-10-tendencias-do-setor-agroalimentar.html>

Abebe, B. K., and M. T. Alemayehu. 2022. A review of the nutritional use of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) for human and animal diets. *J Agric Food Res.* 10. doi: 10.1016/j.jafr.2022.100383.

Adams, M. R., and M. O. Moss. 2008. *The Microbiology of Food Production*. M. Adams and M. Moss, editors. *Food Microbiol.* 463. Available from: https://books.google.com/books/about/Food_Microbiology.html?hl=pt-PT&id=g4zkCkoQRQ0C

Affrifah, N. S., R. D. Phillips, and F. K. Saalia. 2022. Cowpeas: Nutritional profile, processing methods and products—A review. *Legume Science.* 4. doi:10.1002/leg3.131.

Ağagündüz, D., B. Yilmaz, T. Koçak, H. B. Altıntaş Başar, J. M. Rocha, and F. Özoğul. 2022. Novel Candidate Microorganisms for Fermentation Technology: From Potential Benefits to Safety Issues. *Foods.* 11. doi:10.3390/foods11193074.

Agbicodo, E. M., C. A. Fatokun, S. Muranaka, R. G. F. Visser, and C. G. Linden Van Der. 2009. Breeding drought tolerant cowpea: Constraints, accomplishments, and prospects. *Euphytica.* 167:353–370. doi:10.1007/s10681-009-9893-8.

Akhtar, G., N. Ahmad Bhat, F. A. Masoodi, and A. Gani. 2021. Small- and Large-Scale Production of Probiotic Foods, Probiotic Potential and Nutritional Benefits. *Advances in Probiotics.* 365–395. doi:10.1016/B978-0-12-822909-5.00023-X.

Allwood, J. G., L. T. Wakeling, and D. C. Bean. 2021. Fermentation and the microbial community of Japanese koji and miso: A review. *J Food Sci.* 86:2194–2207. doi:10.1111/1750-3841.15773.

Allwood, J. G., L. T. Wakeling, L. S. Post, and D. C. Bean. 2023. Food safety considerations in the production of traditional fermented products: Japanese rice koji and miso. *J Food Saf.* 43: e13048. doi:10.1111/JFS.13048. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfs.13048>

Alvelos, M. P. P. D. 2002. Análise, desenvolvimento e teste de métodos e técnicas para controlo estatístico em análise sensorial. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto.

APN. 2016. Leguminosa a Leguminosa, Encha o seu parto de Saúde.

Badiane, F. A., M. Diouf, and D. Diouf. 2014. Cowpea. In: *Broadening the Genetic Base of Grain Legumes*. Springer India. p. 95–114.

Baianu, I. C. 2011. Food Physical Chemistry and Biophysical Chemistry (v2). Nature Precedings. doi:10.1038/npre.2011.6573.2.

Beato, H., M. Resende, L. Paulo, M. Cristóvão, V. Vasconcelos, I. Brandão, I. Pitacas, A. M. Rodrigues, and C. Espírito Santo. 2023. Características nutricionais e determinação dos minerais de três variedades de feijão-frade da lardosa: leguminosa estratégica para ofuturo. Available from: https://icultivar.pt/plataforma/endogenous_plant_genetic_resources/resources_under_study/beans

Calles, T. 2016. The international year of pulses: What are they and why are they important. FAO.

Candeias, M. R. 2021. Avaliação das Propriedades Antimicrobianas de extratos de Feijão-frade [Tese de Mestrado em Engenharia Alimentar]. Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, Lisboa.

Carmo, J. L. 2018. Manual de Boas Práticas em Análise Sensorial [Tese de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar]. Escola Superior Agrária de Viseu, Instituto Politécnico de Viseu, Viseu.

Carneiro da Silva, A., D. da Costa Santos, D. Lopes Teixeira Junior, P. Bento da Silva, R. Cavalcante dos Santos, and A. Siviero. 2019. Cowpea: A Strategic Legume Species for Food Security and Health. In: Legume Seed Nutraceutical Research. IntechOpen.

Carvalho, M., I. Castro, M. Matos, T. Lino-Neto, V. Silva, E. Rosa, and V. Carnide. 2016. Caracterização agro-morfológica de acessos de feijão-frade (*Vigna unguiculata*): bases para o melhoramento. Revista de Ciências Agrárias. 39:506–517. doi:10.19084/rca16091.

Carvalho, M., T. Lino-Neto, E. Rosa, and V. Carnide. 2017. Cowpea: a legume crop for a challenging environment.

Chawla, P., L. Bhandari, P. K. Sath, and R. Kaushik. 2017. Impact of solid-state fermentation (*aspergillus oryzae*) on functional properties and mineral bioavailability of black-eyed pea (*vigna unguiculata*) seed flour. Cereal Chem. 94:437–442. doi:10.1094/CCHEM-05-16-0128-R.

Chilton, S. N., J. P. Burton, and G. Reid. 2015. Inclusion of fermented foods in food guides around the world. Nutrients. 7:390–404. doi:10.3390/nu7010390.

Conceição, C. 2020. Análise Sensorial de Alimentos: Fundamentos e Aplicações, Curso II. Interreg Espanha-Portugal.

Crizel, R. L., Ê. C. Deitos, C. D. Ferreira, V. Ziegler, J. F. Hoffmann, and V. Z. Pinto. 2023. Role of Proteins in Chickpea and Cowpea Considering Global Food Security, Especially Protein-Based Diet Security. In: Chickpea and Cowpea: Nutritional Profile, Processing, Health Prospects and Commercial Uses. CRC Press. p. 195–226.

Diez-Ozaeta, I., and O. J. Astiazaran. 2022. Fermented foods: An update on evidence-based health benefits and future perspectives. *Food Research International*. 156. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111133.

Dimidi, E., S. R. Cox, M. Rossi, and K. Whelan. 2019. Fermented foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. *Nutrients*. 11. doi:10.3390/nu11081806.

Duarte, D. 2023. Caracterização das variedades de feijão-frade da Lardosa. Available from: https://icultivar.pt/plataforma/endogenous_plant_genetic_resources/resources_und_er_study/beans

Ebine Hideo. 2004. Industrialization of indigenous fermented foods. Second Edition. (K. Steinkraus, editor.). Marcel Dekker, New York City.

FAO. 2020. Pulses: Plant protein for a sustainable future.

FAO. 2021. Pulses and Biodiversity. FAO, Divulcation. 1–4.

FAO, V. Rawal, and D. K. Navarro. 2019. The Global Economy of Pulses. Rome.

FAOSTAT. 2024. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>

Fukuda, M., M. Kobayashi, and Y. Honda. 2017. Functional Components and Health Benefits of Fermented Soymilk. *Soft Chemistry and Food Fermentation*. 145–178. doi:10.1016/B978-0-12-811412-4.00006-0.

Gerrano, A. S., W. S. J. van Rensburg, and P. O. Adebola. 2017. Nutritional composition of immature pods in selected Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] genotypes in South Africa. *Aust J Crop Sci*. 11:134–141. doi:10.21475/ajcs.17.11.02. p72.

Gonçalves, A., P. Goufo, A. Barros, R. Domínguez-Perles, H. Trindade, E. A. S. Rosa, L. Ferreira, and M. Rodrigues. 2016. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), a renewed multipurpose crop for a more sustainable agri-food system: Nutritional advantages and constraints. *J Sci Food Agric*. 96:2941–2951. doi:10.1002/jsfa.7644.

Gonçalves, E. M., and A. C. Ramos. 2021. Tendências e oportunidades na fermentação de produtos vegetais. *Vida Rural*. 72–77. Available from: www.vidarural.pt

Hall, A. 2004. Comparative Ecophysiology of Cowpea, Common Bean, and Peanut.

Hutkins, R. W. 2008. Microbiology and Technology of Fermented Foods. Available from: [https://books.google.pt/books?hl=ptPT&lr=&id=CvIl2k8jGgMC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Hutkins,+R.+W.+\(2019\).+Microbiology+and+technology+of+fermented+foods+\(2nd+ed.\).+New+York:+Wiley+Blackwell&ots=S3hq86Sq57&sig=6lwJrtX7uLk9zrIVLokGEh28Hjg&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.pt/books?hl=ptPT&lr=&id=CvIl2k8jGgMC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Hutkins,+R.+W.+(2019).+Microbiology+and+technology+of+fermented+foods+(2nd+ed.).+New+York:+Wiley+Blackwell&ots=S3hq86Sq57&sig=6lwJrtX7uLk9zrIVLokGEh28Hjg&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)

INE, 2023. Available from: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpgid=ine_main&xpid=INE

INSA. 2019. Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar Valores-guia. INSA.

ISO 11136:2014. Sensory analysis - Methodology - General Guidance for conducting hedonic tests with consumers in a controlled area.

Kapravelou, G., R. Martínez, J. Martino, J. M. Porres, and I. Fernández-Fígares. 2020. Natural fermentation of cowpea (*Vigna unguiculata*) flour improves the nutritive utilization of indispensable amino acids and phosphorus by growing rats. *Nutrients*. 12:1–19. doi:10.3390/nu12082186.

Kusumoto, K. I., Y. Yamagata, R. Tazawa, M. Kitagawa, T. Kato, K. Isobe, and Y. Kashiwagi. 2021. Japanese traditional miso and Koji making. *Journal of Fungi*. 7. doi:10.3390/jof7070579.

Lawless, H. T., and H. Heymann. 2010. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices* Springer. Available from:
<https://books.google.pt/books?id=yrLfrVgU6CsC&hl=pt-PT>

Leeuwendaal, N. K., C. Stanton, P. W. O'toole, and T. P. Beresford. 2022. Fermented Foods, Health and the Gut Microbiome. *Nutrients*. 14. doi:10.3390/nu14071527.

LeguCon. 2021. Available from: <https://legucon.pt/>

Maheshwari, G., J. Ahlborn, and M. Rühl. 2021. Role of Fungi in Fermented Foods. *Encyclopedia of Mycology: Volume 1,2*. 2:590–600. doi:10.1016/B978-0-12-819990-9.00015-9.

Mammasse, N., and P. Schlich. 2014. Adequate number of consumers in a liking test. Insights from resampling in seven studies. *Food Qual Prefer*. 31:124–128. doi:10.1016/J.FOODQUAL.2012.01.009.

Marco, M. L., M. E. Sanders, M. Gänzle, M. C. Arrieta, P. D. Cotter, L. De Vuyst, C. Hill, W. Holzappel, S. Lebeer, D. Merenstein, G. Reid, B. E. Wolfe, and R. Hutkins. 2021. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 18. doi:10.1038/s41575-020-00390-5.

Moreira, R. I. V. 2022. *Impacto da Seca Em Variedades Portuguesas de Feijão-Frade* [Tese de Mestrado em Segurança Alimentar]. Universidade de Lisboa; Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.

Moreira, R., C. S. Santos, M. W. Vasconcelos, and E. Pinto. 2022. Qual a evolução da predisposição dos portugueses para consumir leguminosas como fonte proteica principal? *Acta Portuguesa de Nutrição*. 28:26–29. doi:10.21011/apn.2022.2805.

Mudryj, A. N., N. Yu, and H. M. Aukema. 2014. Nutritional and health benefits of pulses. doi:10.1139/APNM-2013-0557.

Available from: <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/apnm-2013-0557>

OCDE. 2019. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of COWPEA (*Vigna unguiculata*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Other Constituents. Paris.

Pereira, G., M. Meneses, and C. Barcelos. 2023. Características das leguminosas-grão. *VidaRural*. 46–51.

Regulamento (CE) nº1924/2006. 2006. Relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos.

Regulamento (CE) nº2073/2005. Relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Regulamento (UE) nº 1169/2011. Relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios.

Regulamento (UE) nº1881/2006. Fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.

Reis, C. M. G. 1994. Caracterização Isoenzimática de Populações de *Vigna unguiculata* (L.) Walp [Tese de Mestrado]. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

Ruiz-Capillas, C., and A. M. Herrero. 2021. Sensory Analysis and Consumer Research in New Product Development. *Foods* 2021, Vol. 10, Page 582. 10:582. doi:10.3390/FOODS10030582. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/3/582/htm>

Saeed, F., M. Afzaal, Y. A. Shah, M. H. Khan, M. Hussain, A. Ikram, H. Ateeq, M. Noman, S. A. Saewan, and A. O. Khashroum. 2022. Miso: A traditional nutritious & health-endorsing fermented product. *Food Sci Nutr*. 10:4103–4111. doi:10.1002/FSN3.3029.

Shockey, K., and C. Shockey. 2019. Miso, tempeh, natto, & other tasty ferments: a step-by-step guide to fermenting grains and beans. 400. Available from: <https://www.barnesandnoble.com/w/miso-tempeh-natto-other-tasty-ferments-kirsten-k-shockey/1129710652>

Shukla, S., H. K. Park, J. K. Kim, and M. Kim. 2011. Determination of biogenic amines in Japanese miso products. *Food Sci Biotechnol*. 20:851–854. doi: 10.1007/S10068-011-0119-1/METRICS Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-011-0119-1>

Shurtleff, W. & A. A. 2018. *The Book of Miso*. 2nd ed. (Soyinfo, editor).

Shurtleff, W., and Akiko. Aoyagi. 1980. *Miso production: the book of miso volume II.80*. Available from: https://books.google.com/books/about/Miso_Production.html?hl=pt-PT&id=xL6Ucidzbg8C

Simões, S., C. Carrera Sanchez, A. J. Santos, D. Figueira, C. Prista, and A. Raymundo. 2023. Impact of Grass Pea Sweet Miso Incorporation in Vegan Emulsions: Rheological, Nutritional and Bioactive Properties. *Foods*. 12. doi:10.3390/foods12071362.

Singh, A. K., T.Mamo, S. A., and A.A.Mahama. 2023. Chapter 9: Cowpea Breeding – Crop Improvement. Available from: <https://iastate.pressbooks.pub/cropimprovement/chapter/cowpea-breeding/>

Singh, R. B., D. Mohan Raj, K. Dashiell, and L. Jackai. 1997. *Advances in Cowpea Research*.

Sobral, J. M. 2018. *As leguminosas: da obscuridade à celebração*. Lisboa.

Stoddard, F. L. 2017. Grain legumes: an overview. In: *Legumes in cropping systems*. p. 70–86.

Tendinha, I. M. V. F. 1988. *Caracterização química e nutritiva feijão frade Vigna unguiculata (L.) WALP [Tese de Mestrado em Produção Animal]*. Escola Superior de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

Timko, M. P., J. D. Ehlers, and P. A. Roberts. 2007. Cowpea. In: *Pulses, Sugar and Tuber Crops*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. p. 49–67. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-34516-9_3

Timko, M. P., and B. B. Singh. 2008. Cowpea, a Multifunctional Legume. In: *Genomics of Tropical Crop Plants*. Springer New York. p. 227–258.

Zhou, G., K. Bester, B. Liao, Z. Yang, R. Jiang, and N. B. Hendriksen. 2014. Characterization of Three *Bacillus cereus* Strains Involved in a Major Outbreak of Food Poisoning After Consumption of Fermented Black Beans (Douchi) in Yunan, China. doi:10.1089/FPD.2014.1768. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2014.1768>

Anexos

Anexo A: Valores de referência para parâmetros microbiológicos em alimentos prontos a consumir (adaptado INSA, 2019) e valores de referência para a presença de contaminantes em géneros alimentícios (adaptada de Reg. UE nº1881/2006)

Parâmetros microbiológicos (critérios de higiene)	Valores de referência		
	Satisfatório	Questionável	Não satisfatório
Contagem de microrganismos a 30°C	<10 ³ (ufc/g)	10 ³ - ≤10 ⁴ (ufc/g)	> 10 ⁴ (ufc/g)
Contagem de Bolores	<5x10 ² (ufc/g)	5x10 ² - ≤10 ³ (ufc/g)	>10 ³ (ufc/g)
Contagem de Leveduras	<10 ³ (ufc/g)	10 ³ - ≤10 ⁴ (ufc/g)	>10 ⁴ (ufc/g)
Contagem de <i>Escherichia coli</i> β-glucuronidase positiva	<10 (ufc/g)	NA (não aplicável)	≥10 (ufc/g)
Parâmetros microbiológicos (Critérios de segurança)	Valores de referência		
	Satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório/potencialmente perigoso
Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>	<10 ² (ufc/g)	10 ² - ≤10 ⁴ (ufc/g)	>10 ⁴ (ufc/g)
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	<10 ³ (ufc/g)	10 ³ - ≤10 ⁵ (ufc/g)	>10 ⁵ (ufc/g)
Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	Não detetado	NA (não aplicável)	Detetado
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetado	Detetado	>10 ² (ufc/g)
Teor de Contaminantes	Valor de referência (Teor máximo)		
Aflotoxinas (B1+B2+G1+G2)	4,0 (µg/kg)		

Anexo B: Boletim de análise – determinação de Aflatoxinas em M1CV



RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136191	Tipo Amostra: Alimento Prep.
Descrição: SOPA MISO M1 CV	Data fim: 12/08/2024

RESULTADOS ANALITICOS

Parâmetro	Resultado	Unidades	Incert	VMA
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1 (% Recup)	108	%	-	
Aflatoxina B2	< 1,00	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B2 (% Recup)	105	%	-	
Aflatoxina G1	< 1,0	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G1 (% Recup)	107	%	-	
Aflatoxina G2	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G2 (% Recup)	114	%	-	

Nota: (1) O valor inferior da Gama corresponde ao Limite de Quantificação. Os resultados deste relatório são referentes à amostra tal como é recepcionada no laboratório. É proibida a reprodução parcial deste relatório sem a aprovação por escrito do laboratório. VMA - Valor Máximo Admissível. O parâmetro assinalado com (A) foi subcontratado a laboratório Acreditado e está fora do âmbito de acreditação, o parâmetro assinalado com (NA) foi subcontratado a laboratório não Acreditado. O cliente é responsável pelos dados associados à identificação da amostra, quando a mesma é realizada por si. (6) Parâmetro acreditado pelo IAS. P.E. - Procedimento de Ensaio. SMEWW: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método interno equivalente é aquele que tem a mesma área de aplicação (parâmetros e matrizes) e que cumpre as características de desempenho, obtendo resultados comparáveis ao(s) método(s) normalizado(s) indicados.



RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136191	Tipo Amostra: Alimento Prep.
Descrição: SOPA MISO M1 CV	Data fim: 12/08/2024

ANEXO TECNICO

Parâmetro	PNT	Técnica	Ref. Norma.	(1) Gama
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina B2	PE-505	LC/MS-MS		1,00 µg/kg
Aflatoxina B2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G1	PE-505	LC/MS-MS		1,0 µg/kg
Aflatoxina G1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G2	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina G2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %

Anexo C: Boletim de análise – determinação de Aflotoxinas em M1A



RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136185	Tipo Amostra: Alimento Prep.
Descrição: SOPA MISO M1 A	Data fim: 12/08/2024

RESULTADOS ANALITICOS

Parâmetro	Resultado	Unidades	Incert	VMA
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1 (% Recup)	108	%	-	
Aflatoxina B2	< 1,00	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B2 (% Recup)	105	%	-	
Aflatoxina G1	< 1,0	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G1 (% Recup)	107	%	-	
Aflatoxina G2	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G2 (% Recup)	114	%	-	

Nota: (1) O valor inferior da Gama corresponde ao Limite de Quantificação. Os resultados deste relatório são referentes à amostra tal como é recepcionada no laboratório. É proibida a reprodução parcial deste relatório sem a aprovação por escrito do laboratório. VMA - Valor Máximo Admissível. O parâmetro assinalado com (A) foi subcontratado a laboratório Acreditado e está fora do âmbito de acreditação, o parâmetro assinalado com (NA) foi subcontratado a laboratório não Acreditado. O cliente é responsável pelos dados associados à identificação da amostra, quando a mesma é realizada por si. (6) Parâmetro acreditado pelo IAS. P.E. -Procedimento de Ensaio. SMEWW:Standard Methods for the Examinaton of Water and Wastewater. Método interno equivalente é aquele que tem a mesma área de aplicação (parâmetros e matrizes) e que cumpre as características de desempenho, obtendo resultados comparáveis ao(s) método(s) normalizado(s) indicados.



RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136185	Tipo Amostra: Alimento Prep.
Descrição: SOPA MISO M1 A	Data fim: 12/08/2024

ANEXO TECNICO

Parâmetro	PNT	Técnica	Ref. Norma.	(1) Gama
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina B2	PE-505	LC/MS-MS		1,00 µg/kg
Aflatoxina B2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G1	PE-505	LC/MS-MS		1,0 µg/kg
Aflatoxina G1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G2	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina G2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %

Anexo D: Boletim de análise – determinação de Aflotoxinas na amostra M2CV.



RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136187	Tipo Amostra: Alimento Prep.
Descrição: SOPA MISO M2 CV	Data fim: 12/08/2024

RESULTADOS ANALITICOS

Parâmetro	Resultado	Unidades	Incert	VMA
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1 (% Recup)	108	%	-	
Aflatoxina B2	< 1,00	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B2 (% Recup)	105	%	-	
Aflatoxina G1	< 1,0	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G1 (% Recup)	107	%	-	
Aflatoxina G2	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G2 (% Recup)	114	%	-	

Nota: (1) O valor inferior da Gama corresponde ao Limite de Quantificação. Os resultados deste relatório são referentes à amostra tal como é recepcionada no laboratório. É proibida a reprodução parcial deste relatório sem a aprovação por escrito do laboratório. VMA - Valor Máximo Admissível. O parâmetro assinalado com (A) foi subcontratado a laboratório Acreditado e está fora do âmbito de acreditação, o parâmetro assinalado com (NA) foi subcontratado a laboratório não Acreditado. O cliente é responsável pelos dados associados à identificação da amostra, quando a mesma é realizada por si. (6) Parâmetro acreditado pelo IAS. P.E. - Procedimento de Ensaio. SMEWW: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método interno equivalente é aquele que tem a mesma área de aplicação (parâmetros e matrizes) e que cumpre as características de desempenho, obtendo resultados comparáveis ao(s) método(s) normalizado(s) indicados.



RELATORIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136187	Tipo Amostra: Alimento Prep.
Descrição: SOPA MISO M2 CV	Data fim: 12/08/2024

ANEXO TECNICO

Parâmetro	PNT	Técnica	Ref. Norma.	(1) Gama
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina B2	PE-505	LC/MS-MS		1,00 µg/kg
Aflatoxina B2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G1	PE-505	LC/MS-MS		1,0 µg/kg
Aflatoxina G1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G2	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina G2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %

Anexo E: Boletim de análise – determinação de Aflotoxinas em M1A.



RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136186
 Descrição: SOPA MISO M2 A

Tipo Amostra: Alimento Prep.
 Data fim: 12/08/2024

RESULTADOS ANALITICOS

Parâmetro	Resultado	Unidades	Incert	VMA
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B1 (% Recup)	108	%	-	
Aflatoxina B2	< 1,00	µg/kg	±45%	
Aflatoxina B2 (% Recup)	105	%	-	
Aflatoxina G1	< 1,0	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G1 (% Recup)	107	%	-	
Aflatoxina G2	< 1	µg/kg	±45%	
Aflatoxina G2 (% Recup)	114	%	-	

Nota: (1) O valor inferior da Gama corresponde ao Limite de Quantificação. Os resultados deste relatório são referentes à amostra tal como é recepcionada no laboratório. É proibida a reprodução parcial deste relatório sem a aprovação por escrito do laboratório. VMA - Valor Máximo Admissível. O parâmetro assinalado com (A) foi subcontratado a laboratório Acreditado e está fora do âmbito de acreditação, o parâmetro assinalado com (NA) foi subcontratado a laboratório não Acreditado. O cliente é responsável pelos dados associados à identificação da amostra, quando a mesma é realizada por si. (6) Parâmetro acreditado pelo IAS. P.E. -Procedimento de Ensaio. SMEWW:Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Método interno equivalente é aquele que tem a mesma área de aplicação (parâmetros e matrizes) e que cumpre as características de desempenho, obtendo resultados comparáveis ao(s) método(s) normalizado(s) indicados.



RELATÓRIO DE ENSAIO

Nº de Referência: AL-24/136186
 Descrição: SOPA MISO M2 A

Tipo Amostra: Alimento Prep.
 Data fim: 12/08/2024

ANEXO TECNICO

Parâmetro	PNT	Técnica	Ref. Norma.	(1) Gama
micotoxinas				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina B1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina B2	PE-505	LC/MS-MS		1,00 µg/kg
Aflatoxina B2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G1	PE-505	LC/MS-MS		1,0 µg/kg
Aflatoxina G1 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %
Aflatoxina G2	PE-505	LC/MS-MS		1 µg/kg
Aflatoxina G2 (% Recup)	PE-505	LC/MS-MS		60,0 %

Anexo F: Cartaz de divulgação de prova sensorial de miso.

 **CATAA**
CENTRO DE APOIO
TECNOLÓGICO AGRO ALIMENTAR

PROVA SENSORIAL DE
MISO

QUER PROVAR MISO?
FAÇA PARTE DO NOSSO PAINEL DE CONSUMIDORES

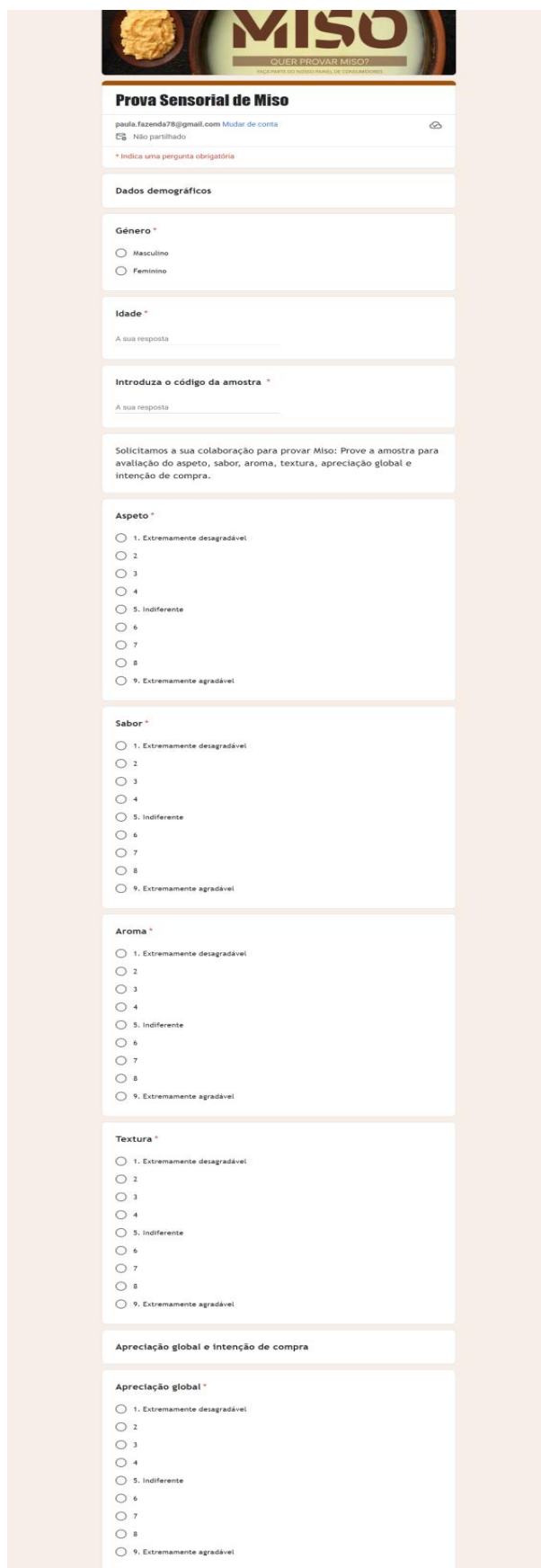
10 E 11 DE SETEMBRO
📍 **CATAA**

LINK NA DESCRIÇÃO

 **Castelo Branco**
 **INOVC**USTER
 **CATAA**
CENTRO DE APOIO
TECNOLÓGICO AGRO ALIMENTAR

 **fusil**
VIVER TODA A FAMILIA

 Este projeto recebeu financiamento do
Horizonte 2020 – Programa-Quadro
Comunitário de Investigação e
Inovação da Comissão Europeia,
sob Acordo No.101000717

Anexo E: - Matriz de teste sensorial de aceitação realizado as amostras de miso desenvolvidas e amostra de controlo.

Prova Sensorial de Miso

paula.fazenda78@gmail.com Mudar de conta

Não partilhado

* Indica uma pergunta obrigatória

Dados demográficos

Género *

Masculino

Feminino

Idade *

A sua resposta

Introduza o código da amostra *

A sua resposta

Solicitamos a sua colaboração para provar Miso: Prove a amostra para avaliação do aspeto, sabor, aroma, textura, apreciação global e intenção de compra.

Aspeto *

1. Extremamente desagradável

2

3

4

5. Indiferente

6

7

8

9. Extremamente agradável

Sabor *

1. Extremamente desagradável

2

3

4

5. Indiferente

6

7

8

9. Extremamente agradável

Aroma *

1. Extremamente desagradável

2

3

4

5. Indiferente

6

7

8

9. Extremamente agradável

Textura *

1. Extremamente desagradável

2

3

4

5. Indiferente

6

7

8

9. Extremamente agradável

Apreciação global e intenção de compra

Apreciação global *

1. Extremamente desagradável

2

3

4

5. Indiferente

6

7

8

9. Extremamente agradável