

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FATORES RELACIONADOS AO PROCESSAMENTO DE
PET FOOD QUE AFETAM A QUALIDADE E ESTRUTURA
CONFORMACIONAL DO PRODUTO ACABADO

Autora: Mônica Estela Zambon Merenda
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos
Coorientador: Prof^a Dr. Joyce Sato

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro – 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FATORES RELACIONADOS AO PROCESSAMENTO DE
PET FOOD QUE AFETAM A QUALIDADE E ESTRUTURA
CONFORMACIONAL DO PRODUTO ACABADO

Autora: Mônica Estela Zambon Merenda
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos
Coorientador: Prof^a Dr. Joyce Sato

Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro – 2021

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

M559f	<p>Merenda, Mônica Estela Zanbon</p> <p>Fatores relacionados ao processamento em <i>pet food</i> que afetam a qualidade e estrutura conformacional do produto acabado / Mônica Estela Zanbon Merenda. -- Maringá, PR, 2021. xv, 73 f.: il. color., figs., tabs.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos. Coorientadora: Profa. Dra. Joyce Sato. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2021.</p> <p>1. Nutrição animal. 2. Extrusão. 3. Digestibilidade <i>in vitro</i>. 4. Gelatinização do amido. 5. <i>Pet food</i>. I. Vasconcellos, Ricardo Souza, orient. II. Sato, Joyce, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.</p>
	CDD 23.ed. 636.085



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FATORES RELACIONADOS AO PROCESSAMENTO DE
PET FOOD QUE AFETAM A QUALIDADE E ESTRUTURA
CONFORMACIONAL DO PRODUTO ACABADO

Autora: Monica Estela Zambon Merenda
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 25 de fevereiro de 2021.

Prof. Dr. Leandro Dalcin Castilha

Prof. Dr. Luciano Trevizan

Prof. Dr. Leonir Bueno Ribeiro

Drª Bruna Ponciano Neto

RICARDO S. VASCONCELLOS

Prof. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos
Orientador

À
Vó Cida (*in memoriam*)

Às minhas tias
Nacir e Izoliana (*in memoriam*)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção constante e por colocar em minha vida pessoas tão especiais, como as que encontrei ao longo deste caminho.

À Universidade Estadual de Maringá, por ter possibilitado concluir o curso de Zootecnia e ao programa de Pós-graduação, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo, no período de mestrado e doutorado.

A Special Dog Company e a todos os seus colaboradores, pelo apoio financeiro à pesquisa e por toda oportunidade de aprendizado.

Ao meu orientador, Prof^o. Dr. Ricardo Souza Vasconcellos, por toda dedicação, apoio, paciência, ensinamentos e conselhos ministrados durante o período de sete anos de orientação, durante o mestrado e doutorado, período de inestimável aprendizado.

A Prof^a. Dr. Joyce Sato, antes parceira de grupo e agora coorientadora.

Ao prof^o. Dr. Leonir Bueno, pela grande colaboração nas análises estatísticas.

A prof^a. Dr. Francielle Sato, Mariana Sversut Gibin e Camilla Y. L. Ogawa, por toda colaboração nas análises.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal (LANA), Angélica Piccioli, Osvaldo Pezoti Junior e Ulisses Zonta de Melo.

Aos meus pais, que mesmo longe, sempre estão me ajudando e me motivando a continuar a estudar. Vocês sempre foram o meu apoio nas horas mais difíceis e os maiores aplausos nas vitórias. Nunca mediram esforços e fizeram tudo que estava ao alcance para que eu realizasse o meu maior sonho. Obrigada por todo tempo dedicado a mim. Sem dúvida, vocês são os melhores pais do mundo!

À minha irmã, que foi uma das maiores incentivadoras para que eu prosseguisse na formação acadêmica, pelo carinho, amor, amizade, paciência, ajuda incondicional e disponibilidade, mesmo quando estava cheia de trabalho.

Ao meu noivo, Lucas Antonio Costa Esteves, que sempre esteve ao meu lado me ajudando e dando força, e muito mais do que isso, sempre me surpreendendo nos momentos difíceis e felizes, compartilhando e auxiliando a superar todas estas situações. E também à sua família, muito obrigado por tudo.

Aos amigos do grupo de pesquisa CEENUFEL, que ajudaram imensamente na conclusão deste trabalho não só participando das atividades, mas na amizade e alegria durante este período.

Aos meus queridos amigos que mesmo distantes, e com muita saudade, contribuíram, incentivaram e acreditaram, dando todo o apoio ao longo desses anos.

E, a todos os professores e colaboradores que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação e para a realização deste trabalho.

Este foi um período de muito aprendizado e, com certeza, vocês foram fundamentais para tudo isso.

Os meus mais sinceros

Muito Obrigado!

BIOGRAFIA

MÔNICA ESTELA ZAMBON MERENDA, filha de Devanir Merenda e Inês Maria Zambon Merenda, nasceu em Promissão, Estado de São Paulo, Brasil, no dia 20 de outubro de 1989.

Em fevereiro de 2009, ingressou no curso de graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual de Maringá, onde se diplomou em dezembro de 2013.

Em março de 2015, iniciou no programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, atuando na área de “Nutrição de cães e gatos”. Em março de 2017, obteve o título de Mestre em Zootecnia.

Em março de 2017 ingressou como aluno regular no doutorado em Produção Animal do programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. Aprovado pelo Exame Geral de Qualificação em 8 de junho de 2020.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
I- INTRODUÇÃO	1
1. O PROCESSO DE EXTRUSÃO	2
2. PRINCIPAIS MODIFICAÇÕES QUE A EXTRUSÃO PODE CAUSAR AOS NUTRIENTES	8
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
II - OBJETIVO GERAL	17
III – Fatores relacionados ao processamento de <i>pet food</i> que afetam a qualidade do produto acabado	19
RESUMO	19
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1 Desenho experimental e coleta de amostras	23
2.3 Análise laboratoriais	23
2.4 Parâmetros de processo	24
2.5 Taxa de expansão e diâmetro	25
2.6 Granulometria	25
2.8 Gelatinização do amido	26
2.9 Índice de peróxido (IP) e índice de acidez (IA)	26
2.10 Residual de antioxidante	27
2.11 Análises estatísticas	27
3. RESULTADOS	28

4. DISCUSSÃO	35
5. CONCLUSÃO.....	40
6. AGRADECIMENTOS	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
IV- Modificações moleculares ocorridas em pet food devido o processo de extrusão observadas por FTIR-ATR.....	47
RESUMO.....	47
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	51
2.1 Coleta de amostras	51
2.2 Processamento dos alimentos.....	52
2.3 Análises laboratoriais	53
2.4 Análise dos alimentos por FTIR-ATR	53
2.5 Análises estatísticas	54
3 RESULTADOS	54
4 DISCUSSÃO.....	62
5 CONCLUSÃO.....	68
6. AGRADECIMENTOS	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1.** Variáveis de processo, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68). 41
- Tabela 2.** Características físico-químicas, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68). 42
- Tabela 3.** Quadro com os componentes principais rotacionados, em ordem crescente. Fatores e cargas fatoriais para as características das matérias primas, parâmetros de processo de alimentos completos para cães e gatos. 43
- Tabela 4.** Teste de Kaiser Meyer Olkin (KMO) e Bartlett. 44
- Tabela 5.** Total de variância explicado e definição do número de componentes principais. 44
- Tabela 6.** Amostras de alimentos para animais de estimação classificadas em grupos com base na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) (g/kg) por análise de *cluster* hierárquico ($P < 0.05$). 45
- Tabela 7.** Amostras de alimentos para animais de estimação classificadas em grupos com base no cozimento do amido (%) por análise de *cluster* hierárquico ($P < 0.05$) 47

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Variáveis de processo, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68). 70

Tabela 2. Características físico-químicas, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68). 71

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Espectro de FTIR-ATR das amostras pré (RM) e pós extrusão (Ex). 73
- Figura 2.** Gráfico de score de PC1 versus PC2, obtido da primeira derivada de todos os espectros tanto antes (RM) quanto depois da extrusão (EX). 74
- Figura 3.** Curva de carga da primeira derivada dos espectros para a componente principal (PC1). 74
- Figura 4.** Áreas calculadas em “*” associadas aos picos de interesse e deconvolução da banda de Amida I para análise da estrutura secundária da proteína. 75
- Figura 5.** Área calculada para a banda dos lipídeos (1743 cm^{-1}) antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação. 76
- Figura 6.** Área calculada para a banda dos polissacarídeos (região de 1180 e 953 cm^{-1}) antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação. 77
- Figura 7.** Área calculada para a banda da amida I, associada as proteínas, antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação. 77
- Figura 8.** Área calculada para a banda de estrutura secundária da proteína, antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação. ... 78

RESUMO

A extrusão é um processo complexo que emprega elevada temperatura, pressão e umidade, que modifica as estruturas do alimento, alterando seu valor nutricional, vida útil e características sensoriais. Estudou-se a relação entre características da matéria-prima, do processamento industrial e do produto acabado, sobre a digestibilidade *in vitro*, gelatinização do amido e na caracterização das alterações de macromoléculas através da técnica Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier acoplado Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR) em alimentos extrusados para cães e gatos. Para isto, registrou-se dados do processamento de 68 amostras de alimentos secos extrusados para cães e gatos, dados esses referentes às configurações de software e hardware e parâmetros de secagem. Além de dados de processo, também foram coletadas amostras de produtos antes da extrusão (*Raw material* "RW"), diretamente do moinho e na saída do secador sem cobertura de óleo, considerado como produto acabado (*Extruded* "Ex"), referente a 11 diferentes alimentos comerciais completos para cães jovens, cães adultos e gatos adultos. A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e o teor de gelatinização foram consideradas variáveis dependentes para a análise estatística e as demais variáveis como medidas de composição e processamento foram consideradas variáveis independentes. Estas últimas foram submetidas à análise fatorial comum (AFC) e, posteriormente, agrupadas. Dentre os seis componentes principais (CP) que foram formados, os componentes relacionados à energia térmica (30,13%), produtividade (20,37%) e à composição bromatológica (11,69%) tiveram

maior impacto na DIVMO. A DIVMO foi dividida em três *clusters* hierárquicos, sendo: baixa (726 g/kg), média (803 g/kg) e alta (842 g/kg) digestibilidade. Para a gelatinização do amido foi utilizado os mesmos componentes principais e foram formados quatro *clusters* hierárquicos, sendo: baixa gelatinização (83%), moderada (87%), alta (92%) e muito alta (95%), significativamente diferentes entre si ($p < 0,0001$). Quanto para as modificações estruturais, as principais diferenças foram detectadas por meio de análise multivariada dos espectros, sendo que a região pertencente aos ácidos graxos e ligações de ésteres entre glicerol e ácidos graxos registraram maior variabilidade amostral na região espectral de 3040 a 2800 cm^{-1} e o pico em 1743 cm^{-1} (C=O), respectivamente. Além disso, as proteínas, representadas por amida I e amida II, localizadas na região entre 1700 e 1600 cm^{-1} e 1600 a 1500 cm^{-1} , variam de forma menos intensa, seguido das bandas de polissacarídeos que se encontram sobrepostos entre 1180 e 953 cm^{-1} . Apesar da formulação dos alimentos se basearem na mistura de ingredientes e composição bromatológica, neste estudo ficou evidente a importância do processamento industrial em relação à DIVMO e na gelatinização, especialmente em relação à energia térmica. Os resultados obtidos através da técnica de FTIR mostrou que essa é promissora como metodologia a ser utilizada para detectar as alterações ocorridas pelo processamento, sendo que as modificações espectrais observadas podem estar associadas à oxidação de lipídeos e proteínas, mudanças conformacionais das proteínas e processos de complexação entre lipídeos proteínas e carboidratos.

Palavras-chave: digestibilidade; extrusão; gelatinização; conformação molecular e *pet food*

ABSTRACT

Extrusion is a complex process that uses high temperature, pressure and humidity, which modifies the food structures, changing its nutritional value, shelf life, and sensorial characteristics. The relationship between the characteristics of the raw material, industrial processing, and finished product, on in vitro digestibility, starch gelatinization, and macromolecule alterations through the coupled Fourier Transform Infrared Spectroscopy technique. (FTIR-ATR) in extruded food for dogs and cats was evaluated. For this, processing data of 68 samples of dogs and cats extruded dry food were recorded, data referring to software and hardware configurations and drying parameters. In addition to process data, product samples were also collected before extrusion (raw material "RW"), directly from the mill and at the dryer outlet, without oil cover, considered as a finished product (Extruded "Ex"), referring to 11 different complete commercial food for young and adult dogs and adult cats. The in vitro digestibility of organic matter (IVDOM) and the gelatinization content were considered dependent variables for statistical analysis and the other variables as composition and processing measures were considered independent variables. The latter were subjected to common factor analysis (CFA) and subsequently grouped. Among the six main components (MC) that were formed, the components related to thermal energy (30.13%), productivity (20.37%) and chemical composition (11.69%) had the highest impact on IVDOM. IVDOM was divided into three hierarchical clusters, being: low (726 g/kg), medium (803 g/kg) and high (842 g/kg) digestibility. For starch gelatinization the same main components were used, and four hierarchical clusters were formed, being: low gelatinization (83%), moderate (87%), high (92%) and very high (95%), significantly different from each other ($p < 0.0001$). As for structural modifications, the main differences were detected through multivariate analysis of the

spectra, with the region belonging to the fatty acids and ester linkages between glycerol and fatty acids registering a higher sample variability in the spectral region from 3040 to 2800 cm^{-1} and the peak at 1743 cm^{-1} (C = O), respectively. In addition, the proteins, represented by amide I and amide II, located in the region between 1700 and 1600 cm^{-1} and 1600 to 1500 cm^{-1} , vary less intensely, followed by the polysaccharide bands that overlap between 1180 and 953 cm^{-1} . Although the formulation of the food is based on the mixture of ingredients and chemical composition, in this study it became evident the importance of industrial processing in relation to DIVMO and gelatinization, especially in relation to thermal energy. The results obtained through the FTIR technique showed that it is promising as a methodology to be used to detect the changes occurred by the processing, and the observed spectral changes may be associated with the oxidation of lipids and proteins, conformational changes of proteins and complexation processes between lipids, proteins and carbohydrates.

Keywords: digestibility; extrusion; gelatinization; molecular conformation; pet food

I- INTRODUÇÃO

A indústria para animais de companhia vem crescendo a cada ano e o mercado nacional foi responsável pelo faturamento de mais de R\$ 22,3 bilhões em 2019, com crescimento anual de 8,4%, com produção estimada de 2,85 milhões de toneladas, consolidando no cenário mundial como o quarto país de maior receita nesse quesito, ficando atrás de Estados Unidos, China e Reino Unido (ABINPET, 2021).

Estima-se que no Brasil há mais de 500 empresas que são fabricantes de alimentos para animais de companhia e os maquinários da maior parte destas empresas ainda são pouco automatizados, sendo o processo muito dependente do operador.

Essa dependência possivelmente interfere na qualidade nutricional e vida útil dos alimentos, causando grande variação qualitativa entre lotes de um mesmo produto.

Desta forma, o subsídio técnico e científico para melhorias na qualidade de processamento dos produtos é fundamental e os dados disponíveis na literatura sobre aspectos produtivos de *pet food* com suas características nutricionais ainda são escassos.

O conhecimento dos fatores industriais que afetam qualitativamente o produto acabado favorecerá o estabelecimento de pontos críticos no processo de extrusão visando um controle mais rígido e padronização cada vez mais efetiva dos processos industriais.

Durante a produção de *pet food* ocorrem processos que combinam calor, alta pressão, umidade e ação mecânica, promovendo modificações estruturais, químicas e nutricionais nos ingredientes, tais como, a gelatinização do amido, desnaturação de proteínas, oxidação lipídica e de vitaminas, formação de sabores, aumento da biodisponibilidade mineral e solubilidade da fibra alimentar (Alam et al., 2015). Tais

alterações podem afetar positiva ou negativamente as características do produto acabado.

Atualmente os parâmetros de processo são avaliados de forma a manter a qualidade do extrusado (*kibble*) o mais constante possível, visando que as alterações entre lotes sejam imperceptíveis. Desta forma, a indústria se baseia em análises do processo como taxa de expansão do *kibble*, densidade, formato, cor e composição bromatológica, principalmente umidade e atividade de água. A maior parte destas variáveis são apenas indicadores de qualidade visual, usados para evitar reclamações de clientes do ponto de vista da aparência do produto, além das análises de contaminantes que é levada muito a sério pela indústria, dada a sua importância.

Porém, por outro lado, sabe-se que as variações de matérias-primas entre lotes, a quantidade de vapor, água e energia utilizada no processo, o tempo de retenção do alimento no condicionador, a temperatura de secagem dentre outros fatores podem afetar diretamente o aproveitamento nutricional de alimentos extrusados e ainda não existe um método laboratorial que possa fazer esta análise auxiliando os técnicos a padronizarem os produtos do ponto de vista de aproveitamento nutricional, uma vez que este é afetado por múltiplos componentes. Desta forma, conhecer e quantificar a relevância das variáveis de processo e ingredientes sobre aspectos qualitativos do produto acabado passam a ser relevantes na busca de melhor padronização de processos industriais.

Com isso, neste projeto, estudou-se o impacto das variáveis de processo sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), gelatinização do amido e também a caracterização das modificações moleculares em polissacarídeos, proteína e lipídeos ocorridas no produto acabado, após o processamento.

1. O PROCESSO DE EXTRUSÃO

Por definição extrusão é um processo de tratamento térmico do tipo *High Temperatura Short Time (HTST)*, no qual os ingredientes moídos serão modificados pela adição de água e vapor e pela combinação de altas temperaturas, alta pressão e

trabalho mecânico, tudo isso em período relativamente curto de tempo (Spears e Fahey, 2004; Riaz, 2007; Tran et al., 2008).

Todo este processo leva a modificações profundas na estrutura química e nutricional que promovem a gelatinização do amido e solubilidade de fibras, desnaturam proteínas, promovem a oxidação lipídica e vitamínica, complexam nutrientes, formam sabores e modificam a biodisponibilidade de nutrientes (Riaz, 2007; Alam et al., 2015).

Tais alterações podem afetar positiva ou negativamente as características do produto acabado. Modificações positivas incluem a melhora na textura e forma física do extrusado, inativação de fatores antinutricionais, gelatinização do amido, extensão de vida de prateleira (shelf-life) e formação de sabores (Murray et al., 2001).

Por outro lado ao modificar as estruturas nutricionais dos ingredientes, alguns efeitos indesejáveis acabam acontecendo, como perdas de vitaminas, oxidação de lipídios (Lin et al., 1998) e redução na disponibilidade de aminoácidos, principalmente da lisina, envolvida na reação de Maillard (Lankorst et al., 2007), além da complexação de carboidratos e lipídeos podendo reduzir o aproveitamento nutricional de um alimento (Camire et al., 1991).

A produção de alimentos extrusados inclui as seguintes etapas: mistura e moagem, condicionamento, extrusão, corte, secagem, recobrimento e resfriamento. Porém, para que a mistura seja feita é necessário a formulação, que inclui múltiplos ingredientes com características diferentes, interferindo diretamente na qualidade do extrusado, devido a suas características físico-químicas (Paiano et al., 2014).

A mistura é uma etapa importante, pois é fundamental que promova máxima homogeneidade do material para ser processado uniformemente. Posteriormente é necessário que ocorra a redução no tamanho das partículas que compõem a mistura. Essa etapa tem como objetivo proporcionar uma mistura homogênea dos ingredientes o que irá facilitar sua extrusão, garantindo assim que cada partícula seja cozida de forma uniforme e adequada, resultando em melhor aparência e palatabilidade da dieta.

Essa primeira modificação estrutural ocorre através da moagem, que normalmente ocorre em moinho de martelos. Esse é composto por um conjunto de lâminas achatadas dispostas paralelamente entre si, ao redor de um eixo de rotação, e ao redor deste conjunto se encontra a peneira com diâmetros de furos, que podem variar

dependendo da característica desejada do produto final. Essas peneiras são responsáveis por selecionar as partículas menores que os diâmetros dos furos e reter as partículas grandes na câmara de moagem até que seu tamanho seja reduzido o suficiente para que passem adiante (Alles, 2003).

O atrito gerado entre os ingredientes e a peneira proporciona a redução do tamanho das partículas, que passam pelos forames da mesma, impulsionadas pela força centrífuga (Roberti Filho, 2013). Além de reduzir o tamanho, o atrito também libera energia, causando elevação de temperatura, que pode causar perdas nutricionais (Tran, 2008).

A checagem da qualidade da moagem geralmente é feita pela medida da granulometria do alimento, por meio da análise do diâmetro geométrico médio (DGM), que, para *pet food* se recomenda que seja inferior a 300 μ m para ter um bom cozimento do alimento.

Para ilustrar a importância da moagem correta sobre o processamento, Mathew et al. (1999) avaliaram diferentes tamanhos de partículas de milho entre 0,75 e 1,5 mm e verificaram que quanto menores são as partículas, maior será a expansão e o índice de absorção de água dos extrudados.

Bazolli et al. (2015) notaram que houve interação entre ingredientes e moagem, ao avaliar fórmulas a base de quirera de arroz, milho e sorgo, que apresentaram diferentes granulometrias ao serem moídas em diferentes peneiras (0,8mm, 1,5 mm e 3,0 mm). Os autores obtiveram diâmetro geométrico médio (DGM) para a formulação à base de quirera de arroz de 277; 311 e 521 μ m, para a formulação a base de sorgo 314, 439 e 594 μ m, e para a formulação com milho 360, 451 e 619 μ m. Assim, foi verificado que o arroz é menos resistente e fragmenta-se em partículas menores, o sorgo de maneira intermediária e o milho demonstrou ser cereal mais rígido, que resultou também em maior variabilidade no DGM da matéria prima.

Após a moagem, a mistura de ingredientes é conduzida para um silo alimentador, que irá alimentar continuamente o condicionador da extrusora. O condicionador é composto por barras cilíndricas, com pás dispostas radialmente girando em velocidade variável, sendo responsável por homogeneizar a mistura de ingredientes e transformá-la em massa uniforme.

Nesta etapa ocorre o pré-cozimento do alimento, pois é adicionada energia térmica à massa, através da injeção direta de vapor e água, responsáveis por aumentar a umidade (que pode variar de 15 a 35%) e a temperatura (que pode variar de 64 a 100°C), isso facilitará a hidratação da massa e principalmente dos grânulos de amido, dando início ao processo de gelatinização do amido, a plasticização da massa e a sanitização do produto. Desta forma, a umidade auxilia no aumento da estabilidade e produtividade da extrusora, e na qualidade do cozimento e texturização do produto final (Riaz, 2000).

Além disso, a adição de energia térmica na forma de vapor é vantajosa em termos econômicos, por ser mais barata e simples e resultar em menos desgaste do equipamento e menor consumo de energia elétrica mediante a aplicação de energia mecânica (Riaz, 2000).

Mas, além da temperatura e umidade, outro fator importante para o cozimento do amido é o tempo de residência que diz respeito ao tempo de permanência dentro do cilindro, este tempo é dependente da taxa de alimentação do sistema, do volume de produção e da velocidade de rotação das pás (Riaz, 2000).

Aumentar o tempo de residência no pré-condicionador e a quantidade de vapor adicionada ao produto aumentará a transferência de energia térmica específica (ETE) e o cozimento, com ganhos na etapa de extrusão e na qualidade final dos *kibbles*. O ajuste do tempo de residência depende das características e necessidades de cada formulação, pode ser modulado alterando a configuração de suas pás e da velocidade de rotação das mesmas (Rokey et al., 2010).

As condições de processamento do pré-condicionador que podem ser controladas ao longo da operação são adição total de umidade, temperatura do produto, taxa de alimentação e o tempo de retenção por meio da velocidade de rotação das pás (Rokey et al., 2010).

Aplicação mais elevada de ETE resultou em aumento da aplicação de energia específica total, maior gelatinização de amido, maior expansão dos *kibbles* e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica. A digestibilidade aparente dos nutrientes e a palatabilidade para cães, no entanto, não foram afetadas (Pacheco et al., 2018).

Ao sair do condicionador, a massa será transportada para a extrusora, que consiste em um canhão com sistema de rosca sem fim (simples ou duplo), que gira em velocidade variável (Riaz, 2000).

Durante a etapa de extrusão, são empregados dois tipos de energia, térmica e mecânica. A ETE na extrusão é oriunda do vapor d'água e a energia mecânica específica (EME) é provida pela compressão e cisalhamento da massa dentro do tubo extrusor, promovida pela rotação do parafuso que comprime a massa contra seu revestimento e matriz no final do tubo.

Além de vapor, água também pode ser adicionada no canhão extrusor. Esta é necessária para intumescimento e cozimento completo do amido em poucos segundos, gerando viscosidade e favorecendo a transferência de energia mecânica. No entanto, o teor de umidade deve ser entre 20% e 35%, (Couto, 2008; Gibson e Alavi, 2013), pois se excessiva pode atuar como um lubrificante, e conseqüentemente reduzir o cisalhamento e aumentar a fluidez da massa. A redução da fricção mecânica não possibilita adequado aumento da temperatura e pressão, com redução da leitura da amperagem do motor (Frame, 1994).

A adição de água é um dos pontos críticos de controle durante o processamento, pois é uma das variáveis que otimiza o processo de extrusão, uma vez que favorece o umedecimento dos ingredientes e transferência de calor, proporcionando o cozimento adequado (Riaz, 2007; Frame, 1994).

Ocasiona mudanças na viscosidade e nas características macroestruturais, pois influencia diretamente a formação de estrutura celular e a expansão dos *kibbles* (Onwulata et al., 2001), modulando a viscosidade da massa e, conseqüentemente, a transferência de EME, resultando em diferentes celularidades, densidades e texturas (Frame, 1994; Onwulata et al., 2001; Ding et al., 2005); reduz o desgaste da rosca extrusora e se adicionada em quantidades suficientes, diminui a taxa de ocorrência da reação de Maillard.

A EME é adicionada à massa pela rotação do parafuso da extrusora, que promove cisalhamento ao empurrar a massa contra seu revestimento e a comprime contra a matriz, na extremidade final do cilindro, criando pressão, fricção e temperatura.

Essa energia é altamente depende da potência do motor e da quantidade total de material processado por um determinado período de tempo. A escolha da velocidade de

rotação e da configuração da rosca influencia a energia mecânica aplicada à massa (Ding et al., 2005).

O atrito criado pela ação da rosca sobre as partículas dissipará a EME, resultando em elevação da temperatura e pressão que em combinação com a umidade resultará na gelatinização do amido, desnaturação e reorganização das proteínas, induzindo a transição de fases da massa e sua plasticização, obtendo-se assim novas formas e texturas características.

As pressões e temperaturas no final do canhão podem atingir 60 bars e 160°C, embora seja usual trabalhar com 120°C e pressões de 20 a 40 bars e temperaturas de 100 a 120°C (Riaz, 2000).

O controle das energias dentro do processo de extrusão é importante para a qualidade final do produto, pois, o mesmo estabelece os devidos parâmetros do processo de extrusão, tornando possível manter a qualidade nutricional do alimento (Sá, 2015).

No fim do canhão extrusor existe a matriz que é uma superfície com aberturas que possibilitam a saída do alimento e dá a formatação desejada, além do sistema de corte, composto por facas com rotação variável, responsáveis por cortar a massa (Riaz, 2000).

Na saída da extrusora, ocorre importante fenômeno conhecido como vaporização da água (*flash-off*) que irá determinar a formação da estrutura celular interna do *kibble*. Dentro do canhão extrusor a massa de ingredientes e água se encontram altamente pressurizada (40 – 80 bars) e com temperaturas elevadas (100-130°C), quando o *kibble* sai pela matriz e entra em contato com a atmosfera ambiente sua pressão interna é instantaneamente liberada, através da vaporização de sua umidade interna, resultando na formação de estrutura celular e expansão (Riaz, 2000).

Esse efeito depende da umidade, pressão e temperatura da massa, bem como do tipo de matéria prima e quantidade de amido gelatinizado presente, normalmente a perda de água por vaporização é de 2 a 5% da umidade da massa (Riaz, 2007).

Ao sair do canhão extrusor o produto segue para a secagem, etapa posterior ao corte, o produto é direcionado à secagem para atingir valores entre 5 e 10%, e atividade de água abaixo de 0,6 com objetivo de estabilidade microbiológica. Embora água e vapor sejam necessários para o cozimento e correto processamento dos alimentos, o

excesso de água livre prejudica a vida útil, por possibilitar o crescimento de microrganismo e ocorrência de reações químicas e enzimáticas como a oxidação.

O secador remove a água através de evaporação, usando a menor quantidade de energia possível, preservando assim as características desejadas do produto final. Quando o produto possui umidade elevada entre 30 e 35%, há necessidade de esforços extras no secador a fim de manter a retirada do excesso de umidade. Para isso há um conjunto de fatores tais como: controle adequado de temperatura, fluxo de ar e tempo de retenção e altura de camada ou espalhamento sobre a esteira.

Após sair do secador, ocorre o recobrimento por óleo e palatilizante e, frequentemente o resfriamento para então o alimento poder ser empacotado e estocado.

2. PRINCIPAIS MODIFICAÇÕES QUE A EXTRUSÃO PODE CAUSAR AOS NUTRIENTES

O uso generalizado da extrusão termoplástica de médio cisalhamento na indústria *pet food* promove mudanças físicas e químicas nos ingredientes, induzido principalmente pela transferência de energia termomecânica para a massa (Griffin, 2003; Tran, 2008).

Estas alterações, como dito anteriormente, podem ser vantajosas ou indesejáveis, como: aumento da digestibilidade dos cereais, melhora da palatabilidade do alimento, modificações de atributos de textura favorecendo a apreensão e mastigação, inativação de fatores antinutricionais, destruição de microrganismos, aumento da vida de prateleira, ampliação das possibilidades de uso de matérias primas, desnaturação de proteínas com melhora de sua digestibilidade (Cheftel, 1986; Murray et al., 2001; Lankhorst et al., 2007).

Em relação aos danos causados pelo tratamento termomecânico, é possível apontar tais efeitos, como: perdas de vitaminas, oxidação de lipídeos, redução na disponibilidade de aminoácidos, principalmente da lisina envolvida na reação de Maillard (Lankhorst et al., 2007), reticulação proteína-proteína e formação de complexos proteína-lipídeo e proteína-carboidrato (Bjorck e Asp, 1983).

As reações de Maillard são importantes nos alimentos, podendo ser benéficas ou não, essa acontece em alimentos que contêm proteínas e açúcares redutores, durante o processamento térmico ou armazenamento prolongado (Williams et al., 2006).

A ocorrência excessiva desta reação pode levar à diminuição da disponibilidade de aminoácidos essenciais, como a lisina. Em alimentos para cães e gatos, formulados com altos teores de proteína, o grupamento ϵ -amino presente em abundância no aminoácido lisina, é o primeiro a se ligar aos açúcares redutores (glicose, maltose e lactose), pois esse grupamento amina é altamente reativo às ligações peptídicas (Van Rooijen, 2015).

O principal substrato para que o processamento ocorra de forma adequada é o amido (Crane et al., 2000), uma vez que contribui para diversas propriedades de textura em alimentos, possuindo aplicações industriais como espessante, estabilizador de coloides, agente gelificante e de volume, na retenção de água, dentre outros (Singh et al., 2003). Este está presente em fontes de cereais como milho e arroz e, também nos tubérculos como batata e a mandioca.

Estruturalmente, o amido se encontra como partículas semiesféricas altamente ordenadas, denominadas grânulos, composto por cadeias lineares de amilose formada de ligações do tipo glicosídica α -1,4 e cadeias ramificadas de amilopectina, formada por unidades de glicose unidas em α -1,4 e α -1,6. A relação de amilose: amilopectina é o que caracteriza e difere as diversas fontes de carboidratos (Ratnayake e Jackson, 2003; Eliasson, 1996; Tester et al., 2004).

Processos envolvendo alta pressão-temperatura e alto cisalhamento são conhecidos por causar destruição parcial ou completa da estrutura cristalina do amido e considerável degradação macromolecular.

Durante o processamento, os grânulos de amido incham por ação da água e vapor adicionados, recebe calor, ação mecânica, pressão e corte, provocando a gelatinização, com isso a estrutura fluidifica e perde sua característica cristalina, ocorrendo aumento da viscosidade (Zeng et al., 1997; Ratnayake e Jackson, 2003).

Alto teor de umidade da massa tende a promover maior gelatinização do amido, no entanto para que isso ocorra é necessário a transferência de energia mecânica suficiente durante a extrusão para romper as ligações das estruturas cristalinas de amilose e amilopectina (Riaz, 2007; Tran, 2008).

O amido gelatinizado perde sua ordenação e estrutura, tornando-se solúvel em água e mais suscetível à degradação enzimática do que o amido cru (Dona et al., 2010). Estudos demonstraram que o amido dos cereais, se extrusado adequadamente, apresenta digestibilidade aparente superior a 95% para gatos (de-Oliveira et al., 2008) e 98% para cães (Carciofi et al., 2008).

Durante o resfriamento e armazenamento de amostras de amido gelatinizado pode ocorrer a retrogradação, que é a associação das moléculas de amilose e amilopectina em uma estrutura cristalina. Essa estrutura pode resistir à hidrólise pela amilase (Roberti Filho, 2013), formando uma porção do amido que passa intacta pelo intestino delgado, denominada de amido resistente.

Além do efeito sobre o amido, o processo de gelatinização também pode influenciar os teores de lipídeos, pois pode haver complexação entre as cadeias de amilose com as moléculas de lipídeos, durante o processamento (Gibson e Alavi, 2013).

Os complexos amilose-lipídeos são formados pela encapsulação do triglicerídeo no interior da molécula de amilose. Essa formação tem papel importante em alterações de textura e expansão dos *kibbles*, quanto maior a adição de gordura na massa menor será a eficiência da transferência de energia mecânica, reduzindo o cozimento do amido e levando à formação de *kibbles* pouco expandidos e densos (Cheftel, 1986).

Alimentos contendo lipídios são susceptíveis, quando na presença de calor e na presença de oxigênio, a sofrer oxidação, devido à degradação dos ácidos graxos insaturados. A oxidação pode levar a formação de aromas rançosos, pode causar a mudança de cor, devido à reação dos pigmentos, especialmente os carotenoides, com os intermediários reativos, chamados radicais livres, que são formados durante a oxidação lipídica.

A taxa de oxidação lipídica é afetada por diversos fatores, como: tipo de gordura, teor de gordura, teor de umidade e grau de expansão dos *kibbles* (Lin et al., 1998; Riaz, 2007). Os radicais livres que resultam dessa oxidação podem reagir com proteínas, vitaminas ou outros constituintes e reduzir drasticamente a qualidade nutricional do alimento. Além disso, ocorre perda pronunciada de sabor e alteração da cor do alimento.

É reconhecido que a extrusão induz oxidação de lipídeos, sendo este potencial efeito negativo deste processo. A oxidação de lipídeos é um dos principais fatores

responsáveis pela diminuição da qualidade das gorduras durante o processamento e armazenamento de produtos extrusados para cães e gatos (Baller et al., 2018).

Essas reações podem ser bloqueadas pela adição de antioxidantes nas rações, estes são responsáveis pela formação de produtos inativos, mas caso não haja antioxidante na dieta, ou ele já tenha sido completamente utilizado, o radical peróxido irá remover o hidrogênio presente no ácido graxo insaturado, formando um hidroperóxido e mais um radical livre, até que toda a gordura tenha sido oxidada (Baller et al., 2018).

As modificações causadas pelo processamento são de grande interesse pela indústria, entretanto são poucos os estudos que quantificam e esclarecem essas interações que acontecem molecularmente entre polissacarídeos, amido e lipídeos.

Uma forma de se fazer esta avaliação é através do uso de equipamentos como a *Fourier-transform infrared spectroscopy* ou Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A absorção no infravermelho ocorre quando a frequência da radiação incidente estiver em ressonância com a frequência de vibração da molécula, desde que haja variação de seu momento de dipolo elétrico (Sala, 2008).

O FTIR é uma técnica muito versátil, minimamente destrutiva e demanda uma pequena quantidade de amostra, permite a medida dos mais diversos materiais, opticamente opacos ou transparentes, e ainda em fase líquida, sólida ou gasosa, isso porque os espectrofotômetros podem ser acoplados a acessórios de reflectância, esferas integradoras, microscópios, células com fluxo de gás ou líquidos, entre outros (Ogawa, 2016).

Tem sido usada para a identificação tanto de compostos orgânicos como inorgânicos. Cada pico em um espectro de absorção no infravermelho indica um modo vibracional, nem todas as ligações químicas presentes na amostra mostram picos no espectro de infravermelho, para isso é necessário que o momento de dipolo da ligação entre os átomos varie durante a interação com o campo elétrico da radiação incidente (Sala, 2008).

Por depender diretamente da absorção da radiação incidente na amostra, os picos nos espectros podem ser correlacionados a quantidade/concentração de um determinado composto da amostra. Se cada composto mostrar um pico infravermelho ativo no

espectro da amostra em números de onda diferentes, é possível identificar compostos diferentes em uma mesma amostra (Ogawa, 2016).

Guerreiro et al., (2014) utilizaram o FTIR para avaliar as mudanças conformacionais provocadas pela extrusão em misturas à base de proteína de soja quando acrescido de polissacarídeos. Foi observado que o aumento do teor de polissacarídeos nas misturas ocasionou diminuição na energia mecânica específica (EME), além disso, à adição de polissacarídeos, afetou a desnaturação da proteína ocorrida nas regiões das amidas I e II.

Diante do exposto, a proposta deste trabalho foi avaliar o efeito do processamento sobre a digestibilidade *in vitro*, gelatinização do amido, assim como os possíveis efeitos sobre as mudanças moleculares ocorridas nas estruturas das macromoléculas, em dietas extrusadas para cães e gatos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABINPET. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. Mercado *Pet* Brasil 2020. Disponível em: <http://abinpet.org.br/mercado/>.

Alam, M. S., Kaur, J., Khaira, H., Gupta, K. 2015. Extrusion and extruded products: Changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2013.779568>.

Alles, G. 2003. Particle reduction technology. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. *Petfood technology*. Illinois: Mt. Morris. 327-335.

Baller, M. A., Pacheco, P. D.G., Peres, F. M., Monti, M. Carciofi A. C. 2018. The effects of in-barrel moisture on extrusion parameters, kibble macrostructure, starch gelatinization, and palatability of a cat food. *Animal Feed Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.003>

Bazolli, R. S., Vasconcellos, R. S., de-Oliveira, L. D., Sá, F. C., Pereira, G. T., Carciofi, A. C. 2015. Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility, and the fecal concentration of fermentation products. *Journal of American Society of Animal Science*. 93,2956–2966. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8409>.

Bjorck, I.; Asp, N.G. 1983. The effects of extrusion cooking on nutritional value, a literature review. *Journal of Food Engineering*. 281-308.

Carciofi, A.C., Takakura, F.S., de-Oliveira, L. D., Teshima, E., Jeremias, J.T., Brunetto, A. M., Prada, F. 2008. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 92, 326–336.

Camire, M.E. 1991. Protein functionality modification by extrusion cooking. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68,200-205.

Cheftel, J.C. 1986. Nutritional effects of extrusion-cooking. *Food Chemistry*. 20, 263-283.

Crane, S.W., Griffin, R.W., Messent, P.R. 200. Introduction to commercial pet foods. In: HAND. M. et al. *Small animal clinical nutrition*. 4 ed. Kansas: Mark Morris Institute. 111-126.

Couto, H. P. 2008. *Fabricação de rações e Suplementos para Animais - Gerenciamento e Tecnologias*. Viçosa:CPT. 226p.

Ding, Q.B., Ainsworth, P., Tucker, G., Marson N, H. 2005. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-expanded snacks. *J. Food Eng.* 66, 283–289.

Eliasson, A. C. 1996. *Carbohydrates in food*. New York: Marcel Dekker, 664p.

Frame, M. D. 1994. *The technology of extrusion cooking*. 1 ed.

Dona, A. C., Pages, G., Gilbert, R. G.; Kuchel, P. W. 2010. Digestion of starch: *In vivo* and *In vitro* kinetic models used to characterize oligosaccharide or glucose release. *Carbohydrate Polymers*. 83, 1775-1786.

Gibson, M., Alavi, S. 2013. Pet Food Processing-Understanding Transformations in Starch during Extrusion and Baking. *Cereal Foods World*. 58, 232-236.

Griffin, R. W. 2003. Palatability testing: Parameters and analyses that influence test conclusions. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. *Petfood technology*. Illinois Mt Morris. 187-193.

Guerrero, P., Kerry, J. P., de la Caba, k. 2014. FTIR characterization of protein–polysaccharide interactions in extruded blends. *Carbohydrate Polymers*, 111, 598–605.

Lankhorst, C., Tran, Q.D., Havenaar, R., Hendriks, W.H., van der Poel, A.F.B. 2007. The effect of extrusion on the nutritional value of canine diets as assessed by *in vitro* indicators. *Animal Feed Science and Technology*. 138, 285–297. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.11.015>.

Lin, S., Hsieh, F.; Huff, H.E. 1998. Effects of lipids and processing conditions on lipid oxidation of extruded dry pet food during storage. *Animal Feed Science Technology*. 71, 283-194.

Mathew, J. M., Hoseney, R. C., Faubion, J. M. 1999. Effects of corn hybrid and growth environment on corn curl and pet food extrudates. *Cereal Chemistry*. 76, 625-628.

Murray, S.M., Flickinger, A.E., Patil, A.R.; Merchen, N.R.; Brent JR, J.L., Fahey JR, G.C. 2001. *In vitro* fermentation characteristics of native and processed cereal gains and potato starch using ileal chyme from dogs. *Journal Animal Science*. 79, 435–444.

Pacheco, P. D.G., Putarov, T. C., Baller, M. A., Peres, F. M., Loureiro, B. A., Carciofi, A. C. 2018. hermal energy application on extrusion and nutritional characteristics of dog foods. *Animal Feed Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.003>.

Paiano, D., Biazzini, H.M., Trevisan, C., 2014. Macro ingredientes como indicadores da qualidade da mistura de ração Semina: Ciências Agrárias. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n3p1463>.

Ogawa, C. Y. L. 2016. Técnicas espectroscópicas para identificação e quantificação de compostos fenólicos sólidos. Dissertação (Mestrado em Física). 69f.- Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

de-Oliveira, L. D., Carciofi, A. C., Oliveira, M. C. C., Vasconcellos, R. S., Bazolli, R. S., Pereira, G. T., and Prada, F. Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. *Journal of Animal Science*. 86, 2237–2246.

Onwulata, C.I., Smith, P.W., Konstance, R.P., Holsinger, V.H. 2001. Incorporation of whey products in extruded corn, potato or rice snacks. *Food Research International*. 34, 679-687.

Ratnayake, W. S., Jackson, D. S. 2003. Starch: sources and processing. In: Encyclopedia of Food Science. Food Technology and Nutrition. 2nd ed. Rev. New York: John Wiley & Sons. 5567-5572.

Riaz, M. N. (ed.). Extruders in food applications. Boca Raton: CRC Press, 2000.

Riaz, M.N., 2007. Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds. Agrimedia, Clenze, USA.

Roberti Filho, F. de O. 2013. Influência da granulometria da matéria-prima e da configuração da extrusora no conteúdo de amido resistente, digestibilidade, fermentação intestinal e respostas metabólicas de cães. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), 68f. – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Rokey, G.J., Plattner, B., Souza, E.M. de, 2010. Feed extrusion process description. Rev. Bras. Zootec. 39, 510–518. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300055>.

Sá, F. C. 2015. Energia Mecânica, Energia Térmica e Moagem na Extrusão de Alimentos para Cães e Gatos. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) 94f – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Sala, O. 2008. *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*, 2.ed. São Paulo: UNESP.

Singh, N., Sing, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., Gill, B. S. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. Food Chemistry. 81, 219-231. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00416-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00416-8).

Spears, J. K., Fahey, G.C., 2004. Resistant starch as related to companion animal nutrition. J. AOAC Int. 87, 787–791.

Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X. 2004. Starch – composition, fine structure and architecture. Journal of Cereal Science. 39,151-165. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>.

Tran, Q.D.; Hendriks, W. H.; VAN DER POEL, A. F. 2008. Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. Journal of the Science of Food and Agriculture. 88,1487-1493.

Van Rooijen, C., Bosch, G., Poel, A.F.B. Van Der, Wierenga, P.A., Alexander, L., Hendriks, W.H., 2013. The Maillard reaction and pet food processing : effects on nutritive value and pet health. *Nutrition Research Reviews* 26, 130–148. https://doi.org/10.1017/1140_S0954422413000103

Zeng, M., Morris, C.F., Batey, I. L., Wrigley, C.W. 1997. Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties in wheat. *Cereal Chemistry*. 74, 63-71.

Williams, P. A; Hodgkinson, S. M; Rutherford, S. M; Hendriks, W. H. 2006. Lysine content in canine diets can be severely heat damaged. *American Society of Nutrition. Journal Nutrition*. 136,1998-2000.

II - OBJETIVO GERAL

Objetivou-se determinar os fatores relacionados à matéria-prima, processamento industrial e características do produto acabado que afetam a digestibilidade *in vitro*, estabilidade oxidativa e as principais modificações ocorridas em moléculas de carboidratos, lipídeos e proteínas em alimentos completos extrusados para cães e gatos, caracterizadas pela técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier acoplado a reflexão total atenuada (FTIR-ATR).

Fatores relacionados ao processamento de *pet food* que afetam a qualidade do produto acabado

Mônica Estela Zambon Merenda, Gloria Bonfim¹, Josiane Aparecida Volpato¹, Isabela Martins¹, Mayara Uana¹, Leonir Bueno¹ e Ricardo Souza Vasconcellos¹.

¹Universidade Estadual de Maringá (PPZ-UEM).

Contato: ricardo.souza.vasconcellos@gmail.com

* Artigo redigido conforme as normas de publicação do *Animal Feed Science and Technology*.

III – Fatores relacionados ao processamento de *pet food* que afetam a qualidade do produto acabado

RESUMO

Estudou-se a relação entre características da matéria-prima, do processamento industrial e do produto acabado, sobre a digestibilidade *in vitro* e gelatinização do amido em alimentos extrusados para cães e gatos. Para isto, registrou-se dados do processamento de 68 amostras de alimentos secos extrusados para cães e gatos, dados esses referentes a configurações de software e hardware e parâmetros de secagem. Além de dados de processo também foram coletadas amostras de produtos antes da extrusão, diretamente do moinho e na saída do secador, sem cobertura de óleo considerado como produto acabado. A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e o teor de gelatinização foram consideradas variáveis dependentes para a análise estatística e as demais variáveis como medidas de composição e processamento foram consideradas variáveis independentes. Estas últimas foram submetidas à análise fatorial comum (AFC) e, posteriormente, agrupadas. Dentre os seis componentes principais (CP) que foram formados, os componentes relacionados à energia térmica (30,13%), produtividade (20,37%) e à composição bromatológica (11,69%) tiveram maior impacto na DIVMO. A DIVMO foi dividida em três *clusters* hierárquicos, sendo: baixa (726 g/kg), média (803 g/kg) e alta (842 g/kg) digestibilidade. Para a gelatinização do amido foi utilizado os mesmos componentes principais e foram formados quatro *clusters* hierárquicos, sendo: baixa gelatinização (83%), moderada (87%), alta (92%) e muito alta (95%), significativamente diferentes entre si ($p < 0,0001$). Apesar da formulação de alimentos ser baseada na mistura de ingredientes e composição bromatológica para se obter digestibilidade satisfatória, neste estudo ficou evidente a importância do processamento industrial nestes resultados, especialmente da energia térmica.

Palavras-Chave: alimento extrusado; digestibilidade; gelatinização; multivariada; processamento.

Factors related to the processing of pet food that affects the quality of products

Abstract

The relationship between characteristics of the raw material, industrial processing and the finished product, on in vitro digestibility and gelatinization of starch in extruded food for dogs and cats was studied. To this end, processing data from 68 samples of dogs and cats extruded dry food for were recorded, data referring to the conformation of the extrusion and drying parameters. In addition to process data, product samples were also collected before extrusion, directly from the mill and at the exit of the dryer, without oil cover considered as a finished product. The in vitro digestibility of organic matter (IVDMO) and the gelatinization content were considered dependent variables for statistical analysis and the other variables as composition and processing measures were considered independent variables. The latter were subjected to common factor analysis (AFC) and subsequently grouped. Among the six main components (CP) that were formed, the components related to thermal energy (30.13%), productivity (20.37%) and chemical composition (11.69%) had the highest impact on IVDMO. IVDMO was divided into three hierarchical clusters, being: low (726 g/kg), medium (803 g/kg) and high (842 g/kg) digestibility. For the starch gelatinization the same main components were used and four hierarchical clusters were formed, being: low gelatinization (83%), moderate (87%), high (92%) and extremely high (95%), significantly different from each other ($p < 0.0001$). Although the food formulation is based on a mixture of ingredients and chemical composition to obtain satisfactory digestibility, in this study the importance of industrial processing in these results, especially thermal energy, was evident.

Key words: digestibility; extruded food; gelatinization; multivariate; processing.

1. INTRODUÇÃO

A extrusão é caracterizada como um processo que ocorre com alta temperatura (80–120°C) e pressão em um curto período de tempo (10–270 segundos) (Dziezak, 1989).

Apesar de eficiente e de baixo custo relativo, o processo de extrusão envolve diversos processos, como a ação mecânica e fatores relacionados à temperatura, gerando combinações que levam a modificação da estrutura física, química e nutricionais, tais como, a gelatinização do amido, desnaturação de proteínas, oxidação lipídica e de vitaminas, formação de sabores, aumento da biodisponibilidade mineral e solubilidade da fibra alimentar (Alam et al., 2015).

As modificações promovidas nos alimentos durante a extrusão podem auxiliar ou prejudicar o aproveitamento nutricional, sendo relevante conhecer a influência de cada variável de processo na qualidade final do extrusado.

Embora a qualidade das matérias-primas e a formulação das rações sejam os primeiros pontos a serem considerados, o processamento também exerce papel importante (Tran et al., 2008) e pode interferir na digestibilidade, palatabilidade e até mesmo na saúde, uma vez que perdas de vitaminas, complexação de nutrientes e oxidação são alterações que ocorrem e que devem ser controladas por meio do uso de aditivos ou até mesmo controlando as condições de processamento (Lin et al., 1997).

Um dos principais objetivos na produção de alimentos industrializados é manter a qualidade constante, com variações entre lotes imperceptíveis aos consumidores. A automação industrial, treinamento de funcionários e rigoroso controle de qualidade são fundamentais neste sentido.

Para otimizar a homogeneidade entre lotes e manter o padrão dos produtos, geralmente são utilizadas análises físico-químicas (taxa de expansão e densidade do *kibble*, formato, composição química, coloração e atividade de água) e nutricionais (ensaios de digestibilidade e palatabilidade) para quantificar estas variações. Entretanto, uma vez que os resultados no produto acabado sejam variáveis, é importante se conhecer quais os ajustes necessários no processo.

A digestibilidade de um alimento constitui um dos principais parâmetros nutricionais avaliados de forma objetiva nos alimentos comerciais. Apesar de trazer

informações limitadas, de uma maneira geral a digestibilidade quantifica a proporção dos nutrientes ingeridos que foram absorvidos pelo animal (Lewis e Southern, 2001).

Visando substituir a técnica de digestibilidade *in vivo*, Hervera et al. (2007) desenvolveram um método *in vitro* de dois passos, que simulam a digestão gástrica e no intestinal, sendo encontrado resultados satisfatórios quando comparado a metodologia que faz o uso de animais. A técnica *in vitro* dá um direcionamento, a metodologia é mais prática, possibilita simulações do aproveitamento nutricional do alimento em condições laboratoriais, para que se necessário sejam feitos ajustes, principalmente em relação a composição nutricional.

Uma outra maneira de avaliar a eficiência do processamento é através da gelatinização do amido. Processos envolvendo alta pressão, temperatura e alto cisalhamento são conhecidos por causar destruição parcial ou completa da estrutura cristalina do amido e considerável degradação macromolecular.

Durante o processamento, os grânulos de amido incham por ação da água e vapor adicionados, alto teor de umidade na massa tende a promover maior gelatinização do amido, no entanto, para que isso ocorra é necessário ocorrer transferência de energia mecânica suficiente durante a extrusão para romper as ligações das estruturas cristalinas de amilose e amilopectina (Riaz, 2007; Tran, 2008).

O amido gelatinizado perde sua ordenação e estrutura, tornando-se solúvel em água e mais suscetível à degradação enzimática do que o amido cru (Dona et al., 2010). Estudos demonstraram que o amido dos cereais, se extrusado adequadamente, apresenta digestibilidade aparente superior a 95% para gatos (de-Oliveira et al., 2008) e 98% para cães (Carciofi et al., 2008), tornando um bom indicador de qualidade de processo.

Visto isso, se faz necessário à avaliação dessas alterações nutricionais que ocorrem durante o processamento dos alimentos extrusados, portanto este trabalho tem por objetivo avaliar os fatores relacionados ao processo de extrusão em *pet food* que afetam a digestibilidade e a gelatinização do amido no produto acabado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma indústria fabricante de alimentos para cães e gatos e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) na Universidade Estadual de Maringá (Paraná, Brasil).

2.1 Desenho experimental e coleta de amostras

Foram coletadas 68 amostras de 11 diferentes alimentos produzidos em uma indústria fabricante de alimentos extrusados, das seguintes categorias: alimentos para cães filhotes (n=3, referente ao número de fórmulas ou produtos distintos), alimentos para cães adultos (n=5), alimentos para gatos (n=3).

Os alimentos apresentaram como ingredientes principais: Milho integral moído, farelo de soja, farelo de arroz, farelo de trigo, casca de aveia, aveia, farinha de carne, farinha de vísceras, farinha de carne e ossos, farinha de peixe, ovo integral em pó, proteína isolada de soja, quirera de arroz, glúten de milho, celulose, polpa de beterraba, levedura seca de cervejaria, levedura seca de cana-de-açúcar, gordura de frango, óleo de peixe, hidrolisado de fígado de frango e suíno, premix vitamínico e mineral, conforme a formulação.

Para cada amostra foram realizadas quatro coletas durante a sua produção, de maneira a manter o espaçamento de tempo entre as coletas semelhante, de acordo com o volume a ser produzido. Ao final da coleta, formou-se um pool da amostra, agrupando todas as coletas daquele produto, realizadas naquele dia, para então ser analisado em laboratório.

As amostras foram coletadas em dois pontos distintos, sendo o primeiro da mistura pré-extrusão, coletada diretamente da saída do moinho, e o outro ponto de coleta, foi na saída do secador, após a extrusão, sem cobertura de óleo, coleta essa caracterizada como produto acabado. Todas as amostras foram mantidas sobre refrigeração a -20°C até a realização das análises.

2.3 Análise laboratoriais

As amostras coletadas no misturador e após o secador foram analisadas quanto à atividade de água (A_w) logo após a coleta, antes de serem congeladas, para avaliação utilizou-se de equipamento específico (Labswift-aw, Novasina, Estados Unidos) (método 978.18).

Para a realização das demais análises, inicialmente as amostras foram descongeladas e homogeneizadas. As amostras coletadas na saída do secador foram moídas em moinho do tipo bola (Mod MA-350, Marconi, Piracicaba, Brasil), em seguida, todas as amostras foram analisadas pelos seguintes métodos conforme descrito pela AOAC (1995): secagem em estufa para matéria seca (MS) (método 934,01) e incineração em forno mufla para teor de cinzas (MM) (método 942,05).

As amostras coletadas na saída do secador também foram analisadas quanto ao teor de proteína (PB) pelo Método de Kjeldahl (método 954.01), para conteúdo de gordura foi avaliado extrato etéreo hidrolisado com ácido (EEHA) (método 954.02), para teor de fibra bruta (FB) (método: 978.10) e para o teor de energia bruta (EB) determinado por calorimetria adiabática (calorímetro 6200 Isoperibol, Parr Instrument Company, Moline, Estados Unidos).

A avaliação dos metais de transição ferro (Fe), cobre (Cu) e zinco (Zn) foi realizada a partir do preparo da solução mineral, segundo as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). Com a matéria mineral (cinzas) obtida previamente, foi preparada a solução mineral que consiste em dissolver as cinzas em solução de ácido clorídrico (1:1), a fim de solubilizar os minerais presentes e, em seguida, foram feitas leituras das soluções em espectrofotômetro colorimétrico, registrando-se a concentração, a fim de se elaborar a curva-padrão com as leituras obtidas.

Todas as análises foram realizadas em duplicata e repetidas quando as diferenças entre repetições eram maiores que 5%.

2.4 Parâmetros de processo

Acompanhou-se o fluxograma de produção em duas linhas de produção, sendo a linha 1 composta por moinho de martelo do tipo horizontal (MMP 1200, Promep, Campinas, São Paulo, Brasil), extrusora do tipo simples (X185, Wenger, Sabetha, Kansas, Estados Unidos) com capacidade de produção de 12 ton/h e secador horizontal (modelo SHP 10000, Promep, Campinas, São Paulo, Brasil). A linha 2 composta por moinho de martelo do tipo horizontal (modelo MMP 1200, Promep, Campinas, São Paulo, Brasil 2014), extrusora de rosca simples (X185, Wenger, Sabetha, Kansas, Estados Unidos), com capacidade de produção de 12 ton/h e secador (AirFlow II, Wenger, Sabetha, Kansas, Estados Unidos). Todas as execuções de extrusão seguiram

as recomendações de produção estipuladas pela empresa e variavam de acordo com o alimento produzido.

Durante a produção de cada amostra foram coletados dados relativos ao processamento, estes foram anotados diretamente do painel de controle de cada extrusora, sendo os pontos observados no condicionador, na extrusora e no secador, tais como os ajustes dos equipamentos no momento da coleta de amostras, totalizando 263 dados referentes ao processo.

Os dados coletados referem-se à moagem (peneiras), água e vapor adicionados no condicionador, taxa de alimentação do pré condicionador. Na extrusão: umidade da massa, alimentação da extrusora, temperaturas do canhão extrusor, velocidade da rosca extrusora, abertura da válvula de compressão ajustável (BPV), área aberta da matriz, área de vazão, velocidade do corte, espessura e diâmetro do *kibble*, pressão, amperagem do motor, energia mecânica, densidade e produtividade. Temperatura do secador por seção, tempo de retenção e densidade na saída do secador.

2.5 Taxa de expansão e diâmetro

Para avaliar a macroestrutura dos extrudados foram coletados 20 *kibbles* e mediu-se o comprimento, diâmetro e massa usando um paquímetro de escala, e os dados usados para obter a taxa de expansão radial, comprimento específico e densidade da peça, conforme descrito por Karkle et al. (2012).

2.6 Granulometria

O diâmetro geométrico médio (DGM) foi determinado segundo a metodologia descrita por Zanotto e Bellaver, (1996), modificado quanto ao tamanho das peneiras, sendo elas: 1000, 600, 500, 300, 180, 106, 45 μm e o prato. Os valores finais de DGM foram calculados com auxílio do programa Granucalc (Embrapa, Brasília, Brasil).

2.7 Digestibilidade *in vitro*

Para determinação da digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) utilizou-se a metodologia descrita por Hervera et al. (2007). O método consiste em simular os processos digestivos do organismo animal, sendo realizada em duas etapas,

no estômago e no intestino delgado, utilizando um sistema de duas incubações enzimáticas sucessivas contendo as enzimas pepsina (Sigma Aldrich, P7000 St. Louis, USA) e pancreatina (Sigma Aldrich, P1625, St. Louis, USA). A DIVMO é calculada pela diferença entre a matéria orgânica (MO) da amostra incubada e a MO do resíduo remanescente.

2.8 Gelatinização do amido

O grau de gelatinização do amido foi determinado pelo método da amiloglucosidade conforme descrito por Sá et al. (2013). No qual, parte da amostra tem o teor de amido total determinado como descrito por Hendrix (1993), enquanto a outra é tratada com enzima amiloglicosidade (de *Aspergillus niger*, código A9913, Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), que hidrolisa somente a fração gelatinizada do amido.

A glicose é mensurada no sobrenadante pelo método da glicose oxidase (GOD-ANA, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil) empregando analisador semiautomático (Labquest model BIO-2000, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil). A quantidade de amido gelatinizado da amostra é determinada pela seguinte fórmula: amido gelatinizado (mg) = (absorbância / peso da amostra) x 0,9 x 100. A porcentagem de gelatinização do amido é encontrada multiplicando a quantidade de amido gelatinizado (mg) por 100 e dividindo o resultado pela quantidade total de amido da amostra.

2.9 Índice de peróxido (IP) e índice de acidez (IA)

O índice de peróxido foi determinado pelo método a frio, como descrito na metodologia nº44 do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (2009), que na presença de peróxido esse oxida o iodeto a iodo elementar, que por sua vez forma com o amido um complexo de coloração escura; que volta a coloração normal através da titulação com tiosulfato de sódio.

O índice de acidez foi determinado pelo método que utiliza como solução titulante, o hidróxido de sódio 0,1N e fenoftaleína como indicador, segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2011) que expressa o teor de ácido oleico por 100g de amostra.

2.10 Residual de antioxidante

A análise de residual de antioxidante foi realizada em parceria com a empresa Kemin Industries Inc (Indaiatuba, Brasil), de acordo com o método 983.15 da AOAC, através de cromatografia líquida de alta eficiência, equipada com módulo de separação, bomba quaternária e detector de fotiodo, no qual será empregada uma coluna ACE 3, C18-AR, 150 mm x 4,6 mm i.d, seguindo o método GC-FID LB-IV-20/138-E.

2.11 Análises estatísticas

Os parâmetros relacionados ao material antes do processamento e no processamento foram considerados variáveis independentes, já os parâmetros relacionados à digestibilidade *in vitro* e gelatinização do amido como variáveis dependentes, desta forma foi possível estabelecer uma interrelação entre cada variável independente com as variáveis dependentes, e então, os dados obtidos foram submetidos à análise multivariada.

Primeiramente, as variáveis foram submetidas à análise fatorial comum (AFC), esta tem como objetivo diminuir o número de variáveis iniciais de uma análise, minimizando a perda de informação. A técnica cria um grupo reduzido de fatores comuns não observados a partir da interpretação das inter-relações existentes dentro do conjunto de variáveis observadas. A análise fatorial (AF) foi realizada de acordo com as seguintes etapas: construção da matriz de correlação, verificação da adequabilidade da base de dados através dos testes de Kaiser Meyer Olkin (KMO) e Teste de esfericidade de Bartlett (Lebart, 2000), determinação da matriz de cargas fatoriais utilizando o método dos componentes principais, extração do número de fatores a partir do gráfico scree plot (gráfico de autovalores versus número de fatores); rotação ortogonal dos fatores utilizando o método varimax, e interpretação dos fatores a partir da análise das cargas fatoriais das variáveis. Posteriormente, realizou-se uma análise de agrupamento (*Cluster* Hierárquico), para as variáveis dependentes, utilizando o Programa *Statistical Package for Social Science* (SPSS) da IBM Corporation.

A estes grupos obtidos pelos *Clusters* Hierárquicos, foi realizado Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo Teste de Duncan na comparação das médias,

considerando 5% de probabilidade. Posteriormente, o desdobramento dos componentes, e utilizou-se os valores das variáveis isoladas (variáveis independentes).

3. RESULTADOS

Nas tabelas 1 e 2 são apresentadas as médias e os valores mínimos e máximos dos parâmetros de processo e das características físico-químicas das 68 amostras utilizadas no estudo. A variação em todos os parâmetros estudados foi importante para se proceder com a análise multivariada.

Tabela 1. Variáveis de processo, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68).

PARÂMETROS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Água no condicionador (kg/ton)	198,0	95,00	277,0	51,00
Vapor no condicionador (kg/ton)	83,00	57,00	100,0	9,000
Taxa de alimentação da extrusora (kg/h)	8123	5044	11958	2075
Velocidade da rosca extrusora (rpm)	415,0	392,0	426,0	7,000
Água total (kg/ton) ¹	280,0	179,0	360,0	55,00
Vapor na extrusão (kg/ton)	43,00	10,00	89,00	23,00
Vapor total (kg/ton) ²	126,0	80,00	177,0	30,00
Temperatura do canhão extrusor mínima (°C)	88,00	76,00	107,0	6,000
Temperatura do canhão extrusor máxima (°C)	121,0	107,0	146,00	7,000
Temperatura do canhão extrusor média (°C)	105,0	93,00	122,0	6,000
Velocidade do corte (rpm)	1253	760,0	1985	306,0
Número de furos na matriz	85,00	27,00	240,0	65,00
Área de vazão (mm ² /ton) ⁴	323,0	120,0	1142	248,0
Área aberta da matriz (mm ²) ⁵	2330	1290	5760	1420
Temperatura de saída da extrusora (°C)	128,0	120,00	136,0	3,000
Umidade saída extrusora (g/kg)	228,0	204,00	254,0	11,00
Relação de expansão do Kibble	0,640	0,200	0,990	0,240
Amperagem do motor (%) ³	65,00	51,00	81,00	7,000
Energia mecânica específica (kWh/ton)	18,00	14,00	27,00	3,000
Produtividade (kg/h)	8123	5044	119580	2075
Tempo de retenção no secador (min)	30,00	18,00	37,00	9,000
Temperatura do secador média (°C)	128,0	86,00	180,0	15,00
Temperatura do secador máxima (°C)	139,0	103,0	153,0	11,00

Temperatura do secador mínima (°C)	111,0	56,00	145,0	23,00
Densidade do produto acabado (kg/m ³)	403,0	374,0	440,0	13,00

¹ Água total é composta pela somatória de toda água que entrou no sistema, durante o condicionador, água extra na extrusão e umidade do produto antes da extrusão (mistura).

² Vapor total é composto pela somatória do vapor incluído no condicionador e na extrusão.

³ Percentual da capacidade total do motor, da amperagem máxima.

⁴ Área de vazão é uma relação da área aberta com a produtividade.

⁵ Área aberta corresponde a área total, com todos os furos abertos multiplicado pela área de um inserte.

Tabela 2. Características físico-químicas, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68).

PARÂMETROS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Granulometria – DGM	260,0	184,00	309,00	34,90
Atividade de água produto pré extrusão	0,380	0,310	0,460	0,040
Matéria seca produto pré extrusão (g/kg)	926,50	916,00	937,25	4,750
Matéria mineral produto pré extrusão (g/kg)	93,40	67,20	120,42	12,03
Teor de acidez produto pré extrusão (mgKOH/Kg)	3,150	1,380	5,430	0,870
Peróxido produto pré extrusão (mEq/kg)	1,640	0,000	11,63	3,420
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca no produto pré extrusão (g/kg)	720,75	556,90	829,66	64,77
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica no produto pré extrusão (g/kg)	701,13	532,00	821,92	68,96
Atividade de água do produto acabado	0,510	0,420	0,600	0,050
Teor de matéria seca do produto acabado (g/kg)	943,27	927,25	961,75	7,380
Teor de matéria mineral do produto acabado (g/kg)	92,11	68,15	115,82	13,01
Teor de proteína bruta do produto acabado (g/kg)	288,04	217,34	358,01	46,11
Teor de fibra bruta do produto acabado (g/kg)	44,33	21,39	81,76	13,09
Teor de extrato etéreo do produto acabado (g/kg)	518,79	426,94	578,92	32,76
Energia bruta do produto acabado (g/kg)	4259,98	4035,59	4557,64	154,30
Teor de ferro no produto acabado (mg/kg)	248,24	157,16	445,18	49,10
Teor de cobre no produto acabado (mg/kg)	16,49	9,690	26,20	2,990
Teor de zinco no produto acabado (mg/kg)	148,14	100,53	268,55	33,00
Teor de acidez no produto acabado (mgKOH/Kg)	1,670	0,890	3,270	0,470
Teor de peróxido no produto acabado (mEq/kg)	0,000	0,000	0,000	0,000
Teor de BHT no produto acabado (mg/kg)	46,48	19,06	90,53	15,04
Teor de BHA no produto acabado	0,310	0,000	8,620	1,490

(mg/kg)				
Teor de Etoxiquim no produto acabado (mg/kg)	0,720	0,000	7,900	2,020
Total de antioxidante (mg/kg)	47,51	19,06	100,77	16,52
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca do produto acabado (g/kg)	789,35	710,98	861,54	43,02
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica do produto acabado (g/kg)	779,88	696,45	852,15	46,73
Gelatinização do amido (%)	91,11	81,39	96,91	3,360

Na análise multivariada, obedecendo os critérios pressupostos de carga fatorial (Lebart, 2000; Favero et al., 2009; Hair et al., 2009), obteve-se melhor arranjo com a combinação de 19 variáveis independentes distribuídas em cinco Componentes Principais (CP), denominados: Energia térmica (CP1), produtividade (CP2), composição química (CP3), digestibilidade (CP4) e temperatura de processo (CP5), respectivamente (Tabela 3). Estes cinco CP explicam uma variância acumulada de 75,85% (Tabela 5) com teste KMO = 0,74 (tabela 4), isto significa que os dados apresentaram-se satisfatórios, as variáveis selecionadas estão ajustadas e a análise de CP é aplicável ao conjunto de dados obtidos (Hair et al., 2009; Fávero et al., 2009).

O CP1 (energia térmica) ficou representado pelas variáveis: tempo de retenção no secador, água no condicionador, água total, vapor no condicionador e vapor total. O CP2 (produtividade) foi formado pelas variáveis: área de vazão, temperatura secador média, temperatura secador máxima e energia mecânica extrusora. O CP3 (composição química) foi formado pelas variáveis: atividade de água no produto acabado, proteína bruta no produto acabado, extrato etéreo no produto acabado, ferro no produto acabado, cobre no produto acabado, total de antioxidante no produto acabado. O CP4 compreendeu a Digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica e por fim, o CP5 (Temperatura de processo) compreendeu as temperaturas no canhão extrusor média e máxima (Tabela 3). Os sinais positivos ou negativos das variáveis dentro de um mesmo CP indicam a relação direta ou inversa entre elas, respectivamente.

Tabela 3. Quadro com os componentes principais rotacionados, em ordem crescente. Fatores e cargas fatoriais para as características das matérias-primas, parâmetros de processo de alimentos completos para cães e gatos.

Parâmetros	MATRIZ DE COMPONENTES PRINCIPAIS				
	Componentes principais				
	CP 1- Energia	CP 2- Produtividade	CP 3- Composição	CP 4- Digestibilidade	CP 5- Temperatura

	térmica		química		de processo
Tempo de retenção	0,928	0,186	0,070	0,089	-0,093
Água condicionador	0,887	0,275	0,261	0,053	0,001
Água total	0,908	0,262	0,182	0,074	-0,037
Vapor condicionador	0,873	-0,137	-0,049	0,074	0,081
Vapor total	0,762	-0,259	0,036	-0,012	0,130
Área vazão	0,128	0,821	0,165	0,028	-0,218
Temperatura secador média	-0,217	-0,832	-0,018	-0,134	0,206
Temperatura secador máxima	-0,035	-0,779	-0,052	-0,117	0,008
Energia mecânica extrusora	-0,112	0,646	0,319	-0,129	-0,077
Atividade de água no produto acabado	-0,114	-0,227	-0,766	-0,036	0,054
Proteína bruta no produto acabado	0,418	0,149	0,820	0,148	-0,014
Extrato etéreo no produto acabado	-0,254	-0,024	-0,788	-0,077	0,153
Ferro no produto acabado	0,099	0,012	-0,591	-0,208	0,091
Cobre no produto acabado	-0,093	0,114	0,633	-0,005	-0,065
Total de antioxidação no produto acabado	0,156	0,174	0,622	0,192	0,233
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca na mistura pré-extusão	0,075	0,069	0,224	0,957	0,001
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica na mistura pré-extusão	0,122	0,066	0,197	0,960	0,018
Temperatura no canhão extrusor média	0,135	-0,312	-0,028	0,020	0,881
Temperatura no canhão extrusor máxima	-0,056	-0,242	-0,149	-0,005	0,916

Tabela 4. Teste de Kaiser Meyer Olkin (KMO) e Bartlett.

Medida de Adequação de Amostragem (KMO)		0,741
Teste de Esfericidade de Bartlett	Aproximação Chi-Square	1338,899
	Graus de liberdade	190,000
	Significância	0,000

Tabela 5. Total de variância explicado e definição do número de componentes principais.

Componentes ¹	Total	% de Variância	% Cumulativa
1	6,15	30,77	30,77
2	3,70	18,49	49,27
3	2,45	12,27	61,54
4	1,59	7,94	69,49
5	1,27	6,37	75,85
6	0,92	4,58	80,43
7	0,79	3,96	84,39
8	0,69	3,47	87,86
9	0,56	2,78	90,64
10	0,46	2,28	92,93
11	0,39	1,94	94,87
12	0,29	1,46	96,33
13	0,23	1,14	97,46
14	0,20	0,99	98,46

15	0,12	0,58	99,03
16	0,08	0,41	99,44
17	0,06	0,32	99,76
18	0,02	0,11	99,87
19	0,01	0,07	99,94
20	0,01	0,06	100,0

1 – Método de Extração – Análise de Componentes Principais.

A partir da análise de componentes principais, a qual apresenta todas as variáveis independentes do estudo, procedeu-se com a análise de Cluster hierárquico para as variáveis dependentes. A DIVMO foi ordenada e obteve-se 3 *clusters*, os quais foram denominados baixa (726 g/kg), média (803 g/kg) e alta (842 g/kg) digestibilidade. O índice de gelatinização do amido foi agrupado em baixa (83%), média (87%), alta (92%) e muito alta gelatinização (95%). A partir deste agrupamento das variáveis dependentes, procedeu-se a comparação das médias correspondentes entre as variáveis independentes presentes em cada CP, com o objetivo de identificar os fatores com maior influência na DIVMO e gelatinização do amido (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6. Amostras de alimentos para animais de estimação classificadas em grupos com base na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) (g/kg) por análise de *cluster* hierárquico ($P < 0.05$).

Parâmetros	Clusters					
	G1 (n=25) Baixa	G2 (n=34) Média	G3 (n=9) Alta	Média (n=68)	EPM ¹	P-valor
Digestibilidade <i>in vitro</i> da Matéria Orgânica	726 ^c	803 ^b	842 ^a	780	6,000	<0,0001
Energia térmica	-0,578 ^b	0,221 ^a	0,768 ^a	0,000	0,121	0,0002
Tempo de retenção (min)	24 ^b	33 ^a	37 ^a	30,00	1,000	<0,0001
Água condicionador (kg/ton)	160 ^b	215 ^a	237 ^a	198,0	6,000	<0,0001
Água total (kg/ton)	237 ^b	300 ^a	322 ^a	280,0	7,000	<0,0001
Vapor condicionador (kg/ton)	80 ^b	84 ^{ab}	89 ^a	83,0	1,000	0,014
Vapor total (kg/ton)	112	135	142	126,0	3,600	0,143
Produtividade	-0,514 ^b	0,413 ^a	-0,132 ^{ab}	0,001	0,121	0,001
Área vazão	194 ^b	409 ^a	360 ^a	323,0	30,00	0,003
Temperatura secador média (°C)	137 ^a	123 ^b	124 ^b	128,0	2,000	0,001

Temperatura secador máxima (°C)	144 ^a	135 ^b	137 ^b	139,0	1,000	0,003
Energia mecânica extrusora (kWh/t)	17,20 ^b	19,60 ^a	17,19 ^b	18,40	0,380	0,005
<i>Composição química</i>	<i>-0,244</i>	<i>0,106</i>	<i>0,278</i>	<i>0,001</i>	<i>0,121</i>	<i>0,282</i>
Atividade de água no produto acabado	0,526	0,511	0,498	0,515	0,006	0,253
Proteína bruta no produto acabado (g/kg)	257 ^b	303 ^a	318 ^a	288,0	6,000	<0,0001
Extrato etéreo no produto acabado (g/kg)	53,2 ^a	51,5 ^{ab}	49,5 ^b	519,0	4,000	0,007
Ferro no produto acabado (mg/kg)	257	241	253	248,0	6,000	0,428
Cobre no produto acabado (mg/kg)	16	17	17	16,00	0,001	0,513
Total de antioxidade no produto acabado (mg/kg)	41 ^b	53 ^a	48 ^{ab}	48,00	2,00	0,019
<i>Digestibilidade</i>	<i>-0,451^b</i>	<i>0,268^a</i>	<i>0,239^a</i>	<i>0,001</i>	<i>0,121</i>	<i>0,016</i>
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca na mistura pré-extusão	685 ^b	741 ^a	742 ^a	721,0	8,000	0,002
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica na mistura pré-extusão	659 ^b	725 ^a	726 ^a	701,0	8,000	0,000
<i>Temperatura de processo</i>	<i>0,044</i>	<i>0,120</i>	<i>-0,576</i>	<i>0,001</i>	<i>0,121</i>	<i>0,172</i>
Temperatura no canhão extrusor média (°C)	105	105	103	105,0	1,000	0,523
Temperatura no canhão extrusor máxima (°C)	123	121	118	121,0	1,000	0,109

¹ Erro padrão da média.

^{a, b, c} Dentro de uma linha, médias seguidas por letras diferentes, diferem pelo teste de Duncan ($P < 0.05$).

Como pode ser visto na Tabela 6, o aumento da DIVMO foi significativamente influenciado pelo aumento da utilização de água e vapor no condicionador ($P < 0,0001$), redução na temperatura de secagem ($P < 0,0001$), aumento no teor de proteína bruta ($P < 0,0001$) e redução do teor de gordura na massa ($P = 0,0073$).

Na Tabela 7, encontram-se as relações entre a gelatinização do amido e os CPs. Embora não tenha sido verificado diferença significativa para as variáveis de todos os CPs, pode-se verificar que houve aumento crescente na carga fatorial do CP1, que foi acompanhado pela elevação não significativa da água e vapor no condicionador.

Tabela 7. Amostras de alimentos para animais de estimação classificadas em grupos com base no cozimento do amido (%) por análise de *cluster* hierárquico ($P < 0.05$).

Parâmetros	Clusters				Média (n=68)	EPM ¹	P-valor
	G1 (n=2) Baixa	G2 (n=16) Moderada	G3 (n=34) Alta	G4 (n=16) Muito alta			
Gelatinização (%)	83 ^d	87 ^c	92 ^b	95 ^a	91	0,000	<0,0001
<i>Energia térmica</i>	<i>-1,009</i>	<i>0,009</i>	<i>-0,114</i>	<i>0,359</i>	<i>0,001</i>	<i>0,121</i>	<i>0,2105</i>
Tempo de retenção (min)	28	30	29	33	30,00	1,000	0,600
Água condicionador (kg/ton)	151	190	192	223	198,0	6,000	0,095
Água total (kg/ton)	224	278	275	299	280,0	7,000	0,246
Vapor condicionador (kg/ton)	76	82	83	86	83,00	1,000	0,305
Vapor total (kg/ton)	94	125	122	139	126,0	3,600	0,159
<i>Produtividade</i>	<i>0,656</i>	<i>-0,296</i>	<i>0,100</i>	<i>0,002</i>	<i>0,001</i>	<i>0,121</i>	<i>0,466</i>
Área vazão	413	261	355	308	323,0	30	0,608
Temperatura secador média (°C)	114	131	127	130	128,0	2	0,489
Temperatura secador máxima (°C)	129	141	139	137	139,0	1	0,489
Energia mecânica extrusora (kWh/t)	18,38	17,15	18,72	18,96	18,40	0,38	0,340
<i>Composição química</i>	<i>0,444</i>	<i>-0,447</i>	<i>0,000</i>	<i>0,390</i>	<i>0,000</i>	<i>0,121</i>	<i>0,108</i>
Atividade de água no produto acabado	0,513	0,534	0,517	0,491	0,515	0,006	0,090
Proteína bruta no produto acabado (g/kg)	312 ^a	268 ^{ab}	285 ^b	312 ^a	288,0	6	0,045
Extrato etéreo no produto acabado (g/kg)	507	531	517	511	519,0	4,000	0,348
Ferro no produto acabado (mg/kg)	196	244	253	249	248,0	6,000	0,429
Cobre no produto acabado (mg/kg)	17	15	17	18	16,00	0,001	0,239
Total de antioxidação no produto acabado (mg/kg)	62	41	48	50	48,00	2,000	0,184
<i>Digestibilidade</i>	<i>1,071</i>	<i>0,135</i>	<i>-0,114</i>	<i>-0,027</i>	<i>0,001</i>	<i>0,121</i>	<i>0,393</i>
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca na mistura pré-extusão	775	718	715	729	721,0	8,000	0,591
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica na mistura pré-extusão	762	701	693	712	701,0	8,000	0,486
<i>Temperatura de processo</i>	<i>-0,241</i>	<i>-0,291</i>	<i>-0,007</i>	<i>0,336</i>	<i>0,001</i>	<i>0,121</i>	<i>0,356</i>
Temperatura no canhão extrusor média (°C)	101	105	104	107	105,0	1,000	0,518

Temperatura no canhão extrusor máxima (°C)	119	120	121	123	121,0	1,000	0,616
--	-----	-----	-----	-----	-------	-------	-------

¹ Erro padrão da média.

^{a, b, c} Dentro de uma linha, médias seguidas por letras diferentes, diferem pelo teste de Duncan ($P < 0.05$).

4. DISCUSSÃO

Neste estudo as variáveis independentes foram agrupadas em cinco CPs denominados: energia térmica, produtividade, composição nutricional, digestibilidade e temperatura de processo. A denominação dos CPs foi dada em função das variáveis presentes nos mesmos e as relações entre estas dentro dos CPs. Sabe-se que o processo de extrusão é multifatorial, apresentando estreita interdependência entre os parâmetros produtivos ligados aos alimentos e ajustes de equipamento.

Foram inseridas 50 variáveis (Tabelas 1 e 2) ligadas ao alimento e ao processo e, destas, apenas 19 (Tabelas 3 e 4) foram incluídas na Análise Fatorial Comum, baseando-se nos valores de KMO mais representativos. Apesar do número reduzido de variáveis utilizadas, em sua maior parte estas são citadas na literatura como relevantes na determinação da qualidade final do extrusado (Riaz, 2000; Murray et al., 2001; Lankhorst et al., 2007; Bazolli et al., 2015; Sá et al., 2015; Pacheco et al., 2018; Baller et al., 2018).

O agrupamento dos componentes principais pela análise fatorial foi coerente e por isso, prosseguiu-se com a análise de *Cluster* Hierárquico para que fossem agrupadas as amostras em grupos por semelhança e os efeitos dos componentes principais fossem analisados sobre as variáveis dependentes DIVMO e gelatinização do amido (Favero et al., 2009; Hair et al., 2009).

O primeiro componente principal (CP1) foi o que mais contribuiu para a análise, representando aproximadamente 30% da variação dos resultados. Este apresentou variáveis de extrusão (água e vapor) e de tempo de retenção no secador. Esta relação entre variáveis de etapas diferentes do processo é possível, pois a água e vapor adicionados são importantes durante o cozimento.

No entanto, essa umidade precisa ser retirada durante a secagem e existem basicamente duas formas de se fazer, uma é superaquecendo o produto reduzindo o tempo ou então aplicar temperatura mais amena e controlar o tempo de passagem. Esta última opção parece ser menos agressiva ao extrusado e pode ser constatada neste

trabalho pela relação direta (correlação positiva) entre elas. A implementação de energia térmica ao processo de extrusão mostrou-se fundamental no cozimento e consequente digestibilidade dos alimentos.

Na extrusão de *pet food* é fundamental que os grânulos de amido sofram hidratação durante a etapa do condicionador. Essa adição de energia térmica é necessária para dar início ao cozimento do amido e com isso a plasticização, a sanitização, garantindo a estabilidade da extrusora e a qualidade do produto final (Riaz, 2000).

Esse fenômeno é conhecido por gelatinização, no qual a estrutura fluidifica e perde sua característica cristalina (Zeng et al., 1997; Ratnayake e Jackson, 2003). Estas modificações fazem com que o alimento possa ser moldado promovendo sua formatação adequada, além do impacto positivo em digestibilidade.

Além da importância nutricional, a adição de energia térmica na forma de vapor é vantajosa em termos econômicos, por ser mais barata e simples e resultar em menos desgaste do equipamento e menor consumo de energia elétrica mediante a aplicação de energia mecânica (Riaz, 2000). Neste estudo, as amostras que apresentaram maior DIVMO foram aquelas que receberam mais de 20% de água no condicionador e foram acompanhadas por maior implementação de vapor.

Pacheco et al. (2018) implementaram seis temperaturas distintas no pré condicionador (temperaturas: 45°C; 55°C; 65°C; 75°C; 85°C; 95°C), para que assim fossem geradas diferentes energias térmicas durante o cozimento e avaliaram o efeito sobre a gelatinização do amido, a macroestrutura dos kibbles, e a digestibilidade *in vitro* de alimento para cães. Foi verificado que a aplicação de energia interfere positivamente sobre a digestibilidade, sendo que o aumento na energia térmica fez com que a digestibilidade também aumentasse linearmente ($p < 0,001$), houve aumento na gelatinização do amido e a densidade específica e a taxa de expansão radial reduziram quadraticamente com a aplicação de ETE.

Semelhante ao CP1, o CP2 (produtividade) apresentou variáveis de processo (área de vazão e energia mecânica) e de secagem (temperatura média e máxima), as quais se relacionaram inversamente entre si. Este CP respondeu aproximadamente a 18% das variações dos resultados e possui um outro elemento fundamental na extrusão de *pet food*, que é a utilização de energia mecânica. Somados, os CP1 e CP2 correspondem a praticamente metade de toda a variação observada dos resultados.

Em primeira análise as variáveis que constituem o CP2 não apresentam interdependência muito clara entre si, porém a área de vazão é calculada baseando na energia mecânica, na produtividade, logo se afeta a produtividade consequentemente altera o fluxo de amostra para o secador.

Se a temperatura do secador não estiver ajustada pode provocar superaquecimento e a queima do alimento ou se não for usada temperatura suficiente pode não retirar a água e essa água livre se encontra disponível para reações físicas e químicas assim como para o crescimento microbológico, favorecendo a deterioração do produto (Uboldi Eiroa, 1981).

Estima-se que entre 20% e 35% da energia total aplicada no processo *pet food* correspondem à EME, sendo que o percentual restante diz respeito ao uso de energia térmica. Por energia mecânica entende que é a compressão e cisalhamento da massa dentro do tubo extrusor, promovida pela rotação do parafuso que comprime a massa contra seu revestimento e matriz no final do tubo (Riaz, 2000).

Já a energia térmica corresponde à adição de água e vapor durante o processamento, a principal aplicação desta energia se dá no pre-condicionador, porém também ocorre dentro do canhão extrusor, essa tem por objetivo aumentar a umidade e a temperatura da massa, iniciando o cozimento do amido (Pacheco, et al., 2018).

O aumento da umidade e temperatura causados pela injeção de vapor (energia térmica) é vantajoso em termos econômicos, pois diminuí a fricção da massa e aumenta a produtividade, reduzindo o consumo de energia mecânica (energia elétrica) e o desgaste das peças (Riaz, 2000).

A área de vazão corresponde à capacidade de produção (total) do equipamento em kg/h. A área de vazão pode ser modificada pelas dimensões e configuração da rosca extrusora, dimensão do cilindro extrusor, velocidade rotacional do eixo extrusor e tipo e desenho da matriz. Desta forma, a configuração determina maior ou menor restrição ao fluxo da massa no tubo extrusor, e com isto o atrito mecânico, cisalhamento, aplicação de EME, temperatura e pressão da massa (Guerreiro, 2007).

Como estas variáveis estão diretamente relacionadas à produtividade, é possível que quando ocorre o aumento na produção, a temperatura do secador diminua por formação de camadas mais espessas de produtos no secador, reduzindo assim a temperatura de secagem.

A composição nutricional neste estudo entrou como o terceiro CP mais importante, mas com contribuição reduzida na variação dos resultados, inferior a 15%.

Este CP deve ser avaliado com cuidado quanto a sua influência sobre a digestibilidade, uma vez que foi verificado que o mais elevado teor de proteína bruta e reduzidos teores de extrato etéreo contribuem com a maior digestibilidade do alimento.

No entanto, neste estudo foram incluídos alimentos de diferentes segmentos de mercado (Premium e Superpremium) e o maior teor de proteína é uma característica de alimentos de qualidade superior, os quais empregam ingredientes de melhor qualidade nutricional e digestibilidade. Logo, o maior teor protéico é acompanhado também de ingredientes mais digestíveis, como por exemplo, ovo integral em pó, farinha de vísceras, farinha de peixe, proteína isolada de soja e glúten de milho, os quais podem ter contribuído adicionalmente com a maior digestibilidade.

Ainda no CP3 (composição nutricional) foi verificado que a redução no teor de gordura da massa implica em melhor digestibilidade e gelatinização do amido. Esta interferência da gordura no processo já é bem estabelecida, embora não se conheçam os limites para esta interferência.

Stroucken et al. (1996) não consideram que a complexação das moléculas interfira na digestibilidade da gordura, pois acreditam que estes seriam facilmente digeríveis, o que estaria de acordo com a elevada digestibilidade de lipídeos comumente verificada em dietas para cães e gatos. Mas, a influência da complexação amido lipídeos não está apenas na digestibilidade e sim no prejuízo da transferência de EME para a massa do produto na extrusão, prejudicando o cozimento, a formatação e a expansão do *kibbles* (Cheftel, 1986).

A gordura apresenta um efeito lubrificante no processo prejudicando a gelatinização do amido (de Pilli et al., 2011). Porém neste estudo foi verificada uma relação inversa entre o grau de gelatinização do amido e teor lipídico na massa da ração. Para evitar esta interferência, em *pet food* é possível fazer a aplicação da gordura externamente, após a secagem.

Neste estudo houve aumento expressivo na digestibilidade do alimento extrusado quando comparado com a mesma amostra, antes da extrusão (mistura pré-extrusão, Tabela 6), podendo ver este aumento ao analisar o CP4 (digestibilidade), que representa a DIVMO da mistura antes da extrusão, que foi acompanhado de aumento significativo entre os 3 *Clusters*, os quais representam o alimento extrusado.

Verificou-se aumento entre 10,1% e 15,9% na DIVMO antes e depois da extrusão, mostrando a importância do processamento adequado dos alimentos para otimizar o aproveitamento de nutrientes.

Arribas et al. (2017) verificaram resultados semelhantes em alimentos formulados para humanos contendo uma mistura de farinha de arroz, ervilha e alfarroba. Alguns dos fatores que contribuem para isto é a desnaturação de proteínas, a inativação de fatores antinutricionais, a gelatinização do amido, entre outros.

O último CP (temperatura de processo) foi composto pelas temperaturas de processamento, média e máxima. Foi o componente que teve menor valor na porcentagem de variância (6,37%), provavelmente porque a temperatura de processamento esteja diretamente relacionada ao vapor e energia mecânica que geram calor e esses parâmetros já fazem parte de outros componentes.

A gelatinização do amido e a digestibilidade foram escolhidas como variáveis dependentes, neste estudo, em função da sua importância como marcadores de qualidade de processo. A gelatinização do amido é importante, uma vez que quanto mais elevada, indica maior acessibilidade do amido do alimento à amilase presente no trato digestório e conseqüentemente maior digestibilidade e melhor qualidade fecal dos animais.

Apesar da variação na gelatinização do amido ter ocorrido e esta ser importante para a realização da análise fatorial, o teor de gelatinização do amido de todas as amostras foi acima de 80%, valor considerado satisfatório em alimentos extrusados.

A redução do tamanho das partículas é uma etapa fundamental no processo de extrusão, uma vez que a boa qualidade de moagem, homogênea e com baixo DGM, facilita a hidratação e aquecimento da massa durante o processamento. A redução no tamanho da partícula apresenta influência na eficiência no índice de absorção de água, taxa de expansão (Desrumaux, et al. 1998; Mathew, et al. 1999), eficiência de extrusão e aparência do produto. Desta forma, o monitoramento do DGM é importante, pois irá afetar a gelatinização do amido e conseqüentemente a digestibilidade do produto acabado.

Bazolli et al. (2015) verificaram que o grau de moagem dos ingredientes afetou diretamente a digestibilidade e valores energéticos dos alimentos extrusados. Adicionalmente estes autores verificaram que diferentes cereais, mesmo quando moídos em moinhos equipados com peneiras com orifícios de mesmo tamanho, apresentaram DGM diferente, o qual refletiu na digestibilidade do alimento em cães.

Existe recomendação que alimentos para cães e gatos apresentem DGM inferior a 300 μm visando otimizar as condições de processo e, no presente estudo, todas as

amostras apresentaram-se inferiores a este valor, demonstrando boa qualidade de moagem.

Roberti Filho (2013) observou efeito na redução da área aberta da matriz ($p < 0,001$) e da redução no DGM da matéria-prima ($p < 0,001$) sobre a gelatinização do amido de dietas extrusadas para cães à base de milho, enquanto o oposto foi verificado para a porcentagem de amido resistente.

A boa qualidade da moagem favorece o pré-condicionamento da amostra, otimizando a aplicação de energia térmica, com menor necessidade de implementação de energia mecânica e conseqüentemente evita desgaste de equipamentos e maior consumo de energia elétrica na fábrica (Pacheco et al., 2018).

No presente estudo foi reforçada a maior relevância da ETE em relação a EME no cozimento e digestibilidade do alimento. O ganho em digestibilidade dos alimentos extrusados talvez seja o efeito mais notório do processo de gelatinização e plasticização do amido, que se torna mais digerível pelas enzimas digestivas dos carnívoros (Murray et. al., 2001).

Os dados apresentados neste trabalho são importantes para reforçar a dependência da qualidade do cozimento por extrusão da implementação das ETE e EME, respectivamente. Além disto, foi possível verificar a associação de muitas variáveis de processo que apresentam efeito na digestibilidade e gelatinização do amido em *pet food*.

É importante ressaltar que neste estudo, apesar de terem sido coletadas 68 amostras de alimentos e analisados, praticamente 50 variáveis de processo e composição química, os resultados devem ser analisados com cautela, por terem sido coletados em uma indústria e utilizando os dados de duas linhas de extrusão, pois ambas as linhas nas quais foram coletadas as informações, apresentam equipamentos com alta tecnologia, que não reflete a realidade no Brasil.

5. CONCLUSÃO

Segundo a análise estatística multivariada, as variáveis selecionadas ao serem agrupadas nos componentes principais explicam variância acumulada de 75,85%, sendo

que a energia térmica foi responsável por 30,13%, seguida de produtividade (20,37%) e à composição bromatológica (11,69%).

Com os dados obtidos no presente estudo foi possível verificar que mesmo em alimentos produzidos na mesma indústria e utilizando ingredientes mais padronizados, a qualidade do processamento industrial, especificamente pela implementação de energia térmica, em primeiro lugar, seguida pela energia mecânica é um determinante da digestibilidade e qualidade do cozimento em alimentos extrusados.

Por esta razão, equipamentos de alta precisão e ajustes no processo são fundamentais para a obtenção de alimentos de melhor qualidade, demonstrando o caráter multifatorial da extrusão.

6. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da bolsa de estudo e a Special Dog Company pelo financiamento deste projeto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABINPET. 2016. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de estimação.

Alam, M. S.; Kaur, J.; Khaira, H.; Gupta, K. 2015. Extrusion and extruded products: Changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2013.779568>.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 2005. Official methods of analysis. 18th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Arribas, C., Cabellos, B., Sanchez, C., Cuadrado, C., Guillamon, E., Pedrosa, M.M. 2017. Impact of extrusion on nutritional composition, dietary fiber and *in vitro* digestibility of gluten-free snacks based on rice, pea and carob flours blends. *Food & Function*. 8, 3654-3663. <http://dx.doi.org/10.1039/C7FO00910K>.

Baller, M. A., Pacheco, P. D.G., Peres, F. M., Monti, M. Carciofi A. C. 2018. The effects of in-barrel moisture on extrusion parameters, kibble macrostructure, starch gelatinization, and palatability of a cat food. *Animal Feed Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.003>

Bazolli, R. S., Vasconcellos, R. S., de-Oliveira, L. D., Sá, F. C., Pereira, G. T., Carciofi, A. C. 2015. Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility, and the fecal concentration of fermentation products. *Journal of American Society of Animal Science*.93,2956–2966. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8409>.

Carciofi, A.C., Takakura, F.S., de-Oliveira, L. D., Teshima, E., Jeremias, J.T., Brunetto, A. M., Prada, F. 2008. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 92, 326–336.

Cheftel, J.C. 1986. Nutritional effects of extrusion-cooking. *Food Chemistry*. 20, 263-283.

Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. 2009. Sindirações, 5 ed. São Paulo, Brasil.

Desrumaux, A.; Bouvier, J. M.; Burri, J. 1998. Corn grits particle size and distribution effects on the characteristics of expanded extrudates. *Journal of Food Science*. 63, 857-863.

Dona, A. C., Pages, G., Gilbert, R. G.; Kuchel, P. W. 2010. Digestion of starch: *In vivo* and *In vitro* kinetic models used to characterize oligosaccharide or glucose release. *Carbohydrate Polymers*. 83, 1775-1786.

Dziezak, D.J., 1989. Single- and twin-screw extruders in food processing. *Food Technol*. 44, 164–174.

Favero, L.P., Belfiore, P., Silva, F.L., Chan, B.L., 2009. Análise de dados: Modelagem multivariada para tomada de decisões. ELSEVIER EDITORA.

Gibson, M., Alavi, S., 2013. Pet Food Processing-Understanding Transformations in Starch during Extrusion and Baking. *Cereal Food World*. 58, 232-236.

Guerreiro, L. 2007. Produtos extrusados para consumo humano, animal e industrial. REDETEC Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, RJ.

Hair, J.F., Black, W.C., Babin, B.J., Anderson, R.E., Tatham, R.L., 2009. Análise multivariada de dados - 6ed. Bookman.

Hendrix, D. L., 1995: Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Science* 25, 1306–1311.

Hervera, M.; Baucells, M.D.; Blanch, F. e Castrillo, C. 2007. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by *in vitro* analyses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 91, 205-209.

Instituto Adolfo Lutz. 2011. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, IV ed. Manual do Programa Integrado de Qualidade Pet (PIQ PET) .

Karkle, E.L., Alavi, S., Dogan, H., 2012. Cellular architecture and its relationship with mechanical properties in expanded extrudates containing apple pomace. *Food Res. Int.* 46, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.003>.

Lankhorst, C., Tran, Q.D., Havenaar, R., Hendriks, W.H., van der Poel, A.F.B. 2007. The effect of extrusion on the nutritional value of canine diets as assessed by *in vitro* indicators. *Animal Feed Science and Technology*. 138, 285–297. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.11.015>.

Lebart, L., 2000. Contiguity analysis and classification. In: *Data Analysis*. Berlin: Springer, 233- 244.

Lewis, A.J., Southern, L.L. 2001. Anatomy of the digestive system and nutritional physiology. In A. J. Lewis et al., *Swine Nutrition* (pp. 31-63). Boca Raton, FL,US: CRC Press.

Lin, S., Hsieh, F.; Huff, H.E. 1998. Effects of lipids and processing conditions on lipid oxidation of extruded dry pet food during storage. *Animal Feed Science Technology*. 71, 283-194.

Mathew, J. M., Hoseney, R. C., Faubion, J. M. 1999. Effects of corn hybrid and growth environment on corn curl and pet food extrudates. *Cereal Chemistry*. 76, 625-628.

Murray, S.M., Flickinger, A.E., Patil, A.R.; Merchen, N.R.; Brent JR, J.L., Fahey JR, G.C. 2001. *In vitro* fermentation characteristics of native and processed cereal gains and potato starch using ileal chyme from dogs. *Journal Animal Science*. 79, 435–444.

de-Oliveira, L. D., Carciofi, A. C., Oliveira, M. C. C., Vasconcellos, R. S., Bazolli, R. S., Pereira, G. T., and Prada, F. Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. *Journal of Animal Science*. 86, 2237–2246.

Pacheco, P. D.G., Putarov, T. C., Baller, M. A., Peres, F. M., Loureiro, B. A., Carciofi, A. C. 2018. Thermal energy application on extrusion and nutritional characteristics of dog foods. *Animal Feed Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.003>.

de Pilli, T., Derossi, A., Talja, R.A., Jouppila, K., Severini, C. 2011. Study of starch-lipid complexes in model system and real food produced using extrusion-cooking technology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 12, 610–616. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.07.011>.

Riaz, M.N., 2007. *Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds*. Agrimedia, Clenze, USA.

Riaz, M. N. (ed.). *Extruders in food applications*. Boca Raton: CRC Press, 2000.

Ratnayake, W. S.; Jackson, D. S. 2003. Starch: sources and processing. In: *encyclopedia of food science. Food technology and nutrition*. 2nd ed. Rev. New York: John Wiley & Sons. 5567-5572.

Roberti Filho, F. de O. 2013. *Influência da granulometria da matéria-prima e da configuração da extrusora no conteúdo de amido resistente, digestibilidade, fermentação intestinal e respostas metabólicas de cães*. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), 68f. – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Sá, F. C., Vasconcellos, R. S.; Brunetto, M. A.; Filho, F. O. R.; Gomes, M. O. , A. C. 2013. Enzyme use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: Effects on processing and digestibility. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, <https://doi.org/10.1111/jpn.12047>.

Sá, F. C. 2015. *Energia Mecânica, Energia Térmica e Moagem na Extrusão de Alimentos para Cães e Gatos*. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) 94f – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Silva, D. J. e Queiroz, A. C. 2002. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3.ed. Editora UFV, Viçosa, Minas Gerais.

Stroucken, W. P. J., Van der Poel, A. F. B., Kappert, H. J., Eynen, A. C. 1996. Extruding vs pelleting of a feed mixture lowers apparent nitrogen digestibility in dogs. *Journal of Science Food Agriculture*.71, 520-522.

Tran, Q.D.; Hendriks, W. H.; VAN DER POEL, A. F. 2008. Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88,1487-1493.

Uboldi Eiroa, M.N. 1981. Atividade de água: influência sobre o desenvolvimento de microrganismos e métodos de determinação em alimentos. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos - Bol. ITAL*. 18, 353- 383.

Zanotto, D. L. e Bellaver, C.1996. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Comunicado técnico, EMBRAPA, Concórdia, Santa Catarina.

Zeng, M., Morris, C.F., Batey, I. L., Wrigley, C.W. 1997. Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties in wheat. *Cereal Chemistry*. 74, 63-71

Modificações moleculares ocorridas em *pet food* devido o processo de extrusão observadas por FTIR-ATR *

Mônica Estela Zambon Merenda¹, Mariana S. Gibin², Joyce Sato¹, Mayara Uana¹, Francielle Sato² e Ricardo S. Vasconcellos¹.

¹Universidade Estadual de Maringá (PPZ-UEM); ² Universidade Estadual de Maringá (PFI-UEM).

Contato: ricardo.souza.vasconcellos@gmail.com

* Artigo redigido conforme as normas de publicação do *Animal Feed Science and Technology*.

IV- Modificações moleculares ocorridas em pet food devido o processo de extrusão observadas por FTIR-ATR

RESUMO

A extrusão é um processo complexo que emprega elevada temperatura, pressão e umidade, que modifica as estruturas do alimento, alterando seu valor nutricional, vida útil e características sensoriais. Apesar disto, são poucas as ferramentas que permitem caracterizar as modificações em nível molecular. Neste trabalho, objetivou-se aplicar a Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier acoplado Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR) na caracterização das alterações de macromoléculas ocasionadas pelo processo de extrusão em *pet food*. Para isto, foram coletadas e analisadas, amostras de misturas pré-extrusão (*Raw material* “RW”) e alimento pronto após a secagem (Extruded “Ex”) em 68 amostras, referente a 11 diferentes alimentos comerciais completos para cães e gatos. As principais diferenças espectrais foram detectadas por meio de análise multivariada dos espectros, sendo que a região pertencente aos ácidos graxos e ligações de ésteres entre glicerol e ácidos graxos registraram maior variabilidade amostral na região espectral de 3040 a 2800 cm^{-1} e o pico em 1743 cm^{-1} (C=O), respectivamente. Além disso, as proteínas, representadas por amida I e amida II, localizadas na região entre 1700 e 1600 cm^{-1} e 1600 a 1500 cm^{-1} , variam de forma menos intensa, seguido das bandas de polissacarídeos que se encontram sobrepostos entre 1180 e 953 cm^{-1} . As alterações espectrais podem estar associadas a oxidação de lipídeos e proteínas, mudanças conformacionais das proteínas e processos de complexação.

PALAVRAS-CHAVE: alimento extrusado; FTIR-ATR; lipídeo; polissacarídeos; processamento

Molecular changes in pet food due to the extrusion process observed by FTIR-ATR

ABSTRACT

Extrusion is a complex process that uses high temperatures, pressure and humidity, which modify many structures in the food, changing its nutritional value, shelf life and organoleptic characteristics. Despite this, there are few tools that allow characterizing these changes at the molecular level. This work aimed to use Infrared Spectroscopy by Fourier Transform coupled Total Attenuated Reflection (FTIR-ATR) in the characterization of macromolecule changes caused by the extrusion process in pet food. For this, pre-extrusion mash mixes (A) and ready-to-dry food (AR) were collected and analyzed in 68 samples, referring to 11 different complete commercial foods for dogs and cats. The main spectral differences were detected through multivariate analysis of the spectra, and the region belonging to the fatty acids and ester linkages between glycerol and fatty acids registered a higher sample variability in the spectral region from 3040 to 2800 cm^{-1} and the peak in 1743 cm^{-1} (C = O), respectively. In addition, the proteins, represented by amide I and amide II, located in the region between 1700 and 1600 cm^{-1} and 1600 to 1500 cm^{-1} , vary less intensely, followed by the polysaccharide bands that overlap between 1180 and 953 cm^{-1} . Spectral changes may be associated with mechanisms already known as oxidation of lipids and proteins, conformational changes in proteins and complexation processes.

KEYWORDS: extruded food; multivariate analysis; FTIR-ATR; lipid; processing.

1. INTRODUÇÃO

A extrusão é um processo pelo qual um material ganha forma ao passar por um orifício previamente definido (Riaz, 2000). É uma operação versátil e amplamente utilizada, pois pode ser aplicada a variedade de materiais, como plásticos, metais, cerâmica e alimentos.

Os extrusores são usados para misturar, homogeneizar, cozinhar, formatar, sanitizar e texturizar uma mistura, forçando-o através de uma abertura projetada (Guerreiro et al., 2014). Para tal, faz-se necessário a aplicação de umidade, pressão, temperatura e fricção mecânica em curto espaço de tempo. Estas condições aumentam a qualidade nutricional do alimento, com elevada produtividade e reduzido custo de produção.

A mistura de ingredientes, especialmente aqueles com alto teor de proteína e carboidratos passam por profundas modificações estruturais durante a extrusão, quando ocorre a ruptura de ligações químicas entre as moléculas levando, por exemplo, a quebra da proteína, entretanto, essas cadeias de proteína desdobradas tendem a se reorganizar e podem interagir umas com as outras ou então com outros componentes permitindo a formação de novas estruturas, através de novas ligações de ponte de hidrogênio, interações não covalentes e ligações dissulfeto, dando formato ao extrusado (Fukushima e Van Buren, 1970; Quin et al., 2003; Gilbert et al., 2005).

Estas modificações ocorrem por causa das altas temperaturas, pressão, umidade, ao atrito causado pelo cisalhamento e ainda ao elevado fluxo de ar durante a secagem, levam a modificações profundas e irreversíveis, como a formação do estado vítreo do carboidrato ou então a desnaturação de proteínas, pontos críticos que apresentam importantes efeitos na qualidade do produto final (Guerrero et al., 2014).

O aquecimento altera a estrutura tridimensional das proteínas, expondo grupos de peptídeos, tais como CO e NH e cadeia lateral polar e grupos hidrofóbicos que estão envolvidos na ligação intramolecular do hidrogênio e interações eletrostáticas no estado nativo, portanto, esses grupos funcionais se tornam disponíveis para outras formas de interações intermoleculares (Kilara et al., 1986; Wang e Damodaran, 1991).

Além da desnaturação de proteínas, algumas outras modificações também são estudadas como a gelatinização do amido, oxidação dos lipídios e os processos de

complexação molecular (Alam et al., 2015). Apesar destas modificações serem descritas, são poucas as ferramentas práticas que permitem caracterizá-las ou quantificá-las.

Fourier-transform infrared spectroscopy ou Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica que permite o estudo da composição química, estrutura molecular e suas interações (Holse et al., 2011). A absorção do espectro de luz depende dos grupos funcionais das moléculas, assim, a determinação qualitativa e quantitativa de compostos orgânicos pode ser alcançada.

O FTIR é uma técnica muito versátil, minimamente destrutiva e demanda quantidade reduzida de amostra, permite a medida nos mais diversos materiais, opticamente opacos ou transparentes e, ainda em fase líquida, sólida ou gasosa, desde imagens de tecidos cancerígenos e células vivas, até a determinação do conteúdo de moléculas orgânicas, como proteína e sua composição, além de mudanças conformacionais em alimentos (Choi e Ma 2005; Secundo e Guerrieri 2005).

Por depender diretamente da absorção da radiação incidente na amostra, os picos nos espectros podem ser correlacionados a quantidade/concentração de um determinado composto da amostra. Se cada composto mostrar um pico infravermelho ativo no espectro da amostra em números de onda diferentes, é possível identificar compostos diferentes em uma mesma amostra (Ogawa, 2016).

A espectroscopia FTIR tem sido utilizada em estudos com processamento de alimentos, como Guerreiro et al., (2014) que utilizaram o FTIR para avaliar as mudanças conformacionais provocadas pela extrusão em misturas à base de proteína de soja quando acrescido de polissacarídeos. Foi observado que o aumento do teor de polissacarídeos nas misturas ocasionou diminuição na energia mecânica específica (EME), além disso, à adição de polissacarídeos, afetou a desnaturação da proteína ocorrida nas regiões das amidas I e II.

Yasar et al. (2020) monitoraram as mudanças químicas e moleculares ocorridas na fermentação fúngica do farelo de soja e verificaram o processo de fermentação induz melhorias nutricionais significativas, como a degradação de tanino, ácido fítico e fibra alimentar, e a conformação da proteína farinha de soja foi alterada devido à fermentação, sendo que todas essas mudanças foram observadas pelo uso do FTIR, e os autores concluem que a indústria pode se beneficiar do emprego de um método

espectroscópico de análise FTIR rápido e robusto para monitorar a influência da fermentação microbiana neste ingrediente.

Sabe-se que a extrusão modifica a estrutura dos nutrientes, promovendo mudanças que podem ser positivas, como melhora na digestibilidade, formação de sabor e texturização de proteínas, mas, por outro lado, estas alterações podem ser negativas a qualidade, tais como a oxidação de macromoléculas, perdas de nutrientes e formação de compostos potencialmente maléficos ao organismo.

Por isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial uso da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier acoplado a refletância total atenuada (FTIR-ATR), como técnica a ser empregada na identificação das mudanças conformacionais ocorridas em macromoléculas de proteínas, polissacarídeos e lipídeos que ocorrem durante o processo de extrusão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma indústria fabricante de alimentos para cães e gatos, as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Alimentos e Nutrição Animal (LANA) na Universidade Estadual de Maringá (Paraná, Brasil) e as análises por espectroscopia realizadas no complexo de centrais de apoio à pesquisa (COMCAP) na Universidade Estadual de Maringá (Maringá, Paraná, Brasil).

2.1 Coleta de amostras

Foram coletadas 68 amostras de 11 diferentes alimentos produzidos em uma indústria fabricante de alimentos extrusados, das seguintes categorias: alimentos para cães filhotes (n=3), alimentos para cães adultos (n=5), alimentos para gatos (n=3). Os alimentos apresentaram como ingredientes principais: Milho integral moído, farelo de soja, farelo de arroz, farelo de trigo, casca de aveia, aveia, farinha de carne, farinha de vísceras, quirera de arroz, glúten de milho, farinha de carne e ossos, farinha de peixe, ovo integral em pó, proteína isolada de soja, celulose, polpa de beterraba, levedura seca de cervejaria, levedura seca de cana-de-açúcar, gordura de frango, óleo de peixe, hidrolisado de fígado de frango e suíno, premix vitamínico e mineral, conforme a formulação.

Para cada amostra foram realizadas quatro coletas durante a sua produção, de maneira a manter o espaçamento de tempo entre as coletas semelhante, de acordo com o volume a ser produzido. Ao final da coleta, um pool de amostra de cada amostra foi composto para ser analisado em laboratório.

As amostras foram coletadas em dois pontos distintos, sendo o primeiro da mistura pré-extrusão, coletada diretamente da saída do moinho, denominada de (raw material “RM”) e o outro ponto de coleta, foi na saída do secador, após a extrusão, sem cobertura de óleo, coleta essa caracterizada como produto acabado (extruded-“Ex”). Todas as amostras foram mantidas sobre refrigeração a -20°C até a realização das análises.

2.2 Processamento dos alimentos

Acompanhou-se o fluxograma de produção em duas linhas de produção, sendo a linha 1 composta por moinho de martelo do tipo horizontal (MMP 1200, Promep, Campinas, São Paulo, Brasil), extrusora do de rosca simples (X185, Wenger, Sabetha, Kansas, Estados Unidos) com capacidade de produção de 12 ton/h e secador horizontal (modelo SHP 10000, Promep, Campinas, São Paulo, Brasil). A linha 2 é composta por moinho de martelo (modelo MMP 1200, Promep, Campinas, São Paulo, Brasil), extrusora de rosca simples (X185, Wenger, Sabetha, Kansas, Estados Unidos), com capacidade de produção de 12 ton/h e secador (AirFlow II, Wenger, Sabetha, Kansas, Estados Unidos). Todas as execuções de extrusão seguiram as recomendações de produção estipuladas pela empresa e variavam de acordo com o alimento produzido.

Durante a produção de cada amostra foram coletados dados relativos ao processamento, estes foram anotados diretamente do painel de controle de cada extrusora, sendo os pontos observados no condicionador, na extrusora e no secador, tais como os ajustes dos equipamentos no momento da coleta de amostras, totalizando 263 dados referentes ao processo.

Os dados coletados referem-se à: moagem (peneiras), água e vapor adicionados no condicionador, taxa de alimentação do pré condicionador. Na etapa extrusora: umidade da massa, alimentação da extrusora, temperaturas do canhão extrusor, temperatura de bica, velocidade da rosca extrusora, abertura BPV, área aberta da matriz, área de vazão, velocidade do corte, espessura e diâmetro do *kibble*, pressão, amperagem

do motor, energia mecânica, densidade e produtividade. Temperatura do secador por seção, tempo de retenção e densidade na saída do secador.

2.3 Análises laboratoriais

As amostras coletadas no misturador e após o secador foram descongeladas e homogeneizadas. As amostras coletadas na saída do secador foram moídas do tipo bola (Mod MA-350, Marconi, Piracicaba, Brasil), em seguida, todas as amostras foram analisadas pelos seguintes métodos conforme descrito pela AOAC (1995): secagem em estufa para matéria seca (MS) (método 934,01), incineração em forno mufla para teor de cinzas (método 942,05).

As amostras coletadas na saída do secador também foram analisadas quanto ao teor de proteína pelo Método de Kjeldahl (método 954.01), para conteúdo de gordura foi avaliado extrato etéreo hidrolisado com ácido (método 954.02), para teor de fibra bruta (método: 978.10) e para o teor de energia bruta determinado por calorimetria adiabática (calorímetro 6200 Isoperibol, Parr Instrument Company, Moline, Estados Unidos). Todas as análises foram realizadas em duplicado e repetidas quando as diferenças entre repetições foram maiores que 5%.

2.4 Análise dos alimentos por FTIR-ATR

A caracterização das alterações de macromoléculas ocasionadas pelo processo de extrusão foi avaliada em espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier acoplado reflexão total atenuada (FTIR-ATR) em um espectrômetro Bruker Vertex 70v FTIR (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, DEU) com acessório de refletância atenuada (ATR). Os espectros foram coletados de 4000 a 400 cm^{-1} , no vácuo, com resolução espectral de 4 cm^{-1} por meio do *software* OPUS 7.5. Os dados obtidos são compostos por uma média de 64 varreduras, sendo todas as medidas realizadas à temperatura de 25°C. Correção de linha de base e normalização pela norma foram realizadas em todos os dados coletados. O procedimento de normalização pela norma, que consiste na intensidade do espectro (I) ser normalizado por $\sqrt{I_1^2 + \dots + I_n^2}$.

As variações entre as áreas antes e após o processamento foram calculadas da seguinte maneira: (EX-RM)/RM * 100.

2.5 Análises estatísticas

Todos os espectros foram normalizados pela sua área total do espectro. Análise multivariada de componentes principais (ACP) foi executada usando todo o intervalo espectral adquirido (4000 a 400 cm^{-1}) e na primeira derivada dos espectros, apresentando os máximos e mínimos correspondentes e indicando as pequenas diferenças espectrais, para isto, utilizou-se o software Mathematica 7.0 (Wolfram Research, Illinois, EUA).

3 RESULTADOS

A composição nutricional de cada dieta está apresentada na tabela 1.

Tabela 1. Variáveis de processo, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68).

PARÂMETROS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Água no condicionador (kg/ton)	198,0	95,00	277,0	51,00
Vapor no condicionador (kg/ton)	83,00	57,00	100,0	9,000
Taxa de alimentação da extrusora (kg/h)	8123	5044	11958	2075
Velocidade da rosca extrusora (rpm)	415,0	392,0	426,0	7,000
Água total (kg/ton) ¹	280,0	179,0	360,0	55,00
Vapor na extrusão (kg/ton)	43,00	10,00	89,00	23,00
Vapor total (kg/ton) ²	126,0	80,00	177,0	30,00
Temperatura do canhão extrusor mínima (°C)	88,00	76,00	107,0	6,000
Temperatura do canhão extrusor máxima (°C)	121,0	107,0	146,00	7,000
Temperatura do canhão extrusor média (°C)	105,0	93,00	122,0	6,000
Velocidade do corte (rpm)	1253	760,0	1985	306,0
Número de furos na matriz	85,00	27,00	240,0	65,00
Área de vazão (mm^2/ton) ⁴	323,0	120,0	1142	248,0
Área aberta da matriz (mm^2) ⁵	2330	1290	5760	1420
Temperatura de saída da extrusora (°C)	128,0	120,00	136,0	3,000
Umidade saída extrusora (g/kg)	228,0	204,00	254,0	11,00
Relação de expansão do Kibble	0,640	0,200	0,990	0,240
Amperagem do motor (%) ³	65,00	51,00	81,00	7,000
Energia mecânica específica (kWh/ton)	18,00	14,00	27,00	3,000
Produtividade (kg/h)	8123	5044	119580	2075
Tempo de retenção no secador (min)	30,00	18,00	37,00	9,000

Temperatura do secador média (°C)	128,0	86,00	180,0	15,00
Temperatura do secador máxima (°C)	139,0	103,0	153,0	11,00
Temperatura do secador mínima (°C)	111,0	56,00	145,0	23,00
Densidade do produto acabado (kg/m ³)	403,0	374,0	440,0	13,00

¹ Água total é composta pela somatória de toda água que entrou no sistema, durante o condicionador, água extra na extrusão e umidade do produto antes da extrusão (mistura).

² Vapor total é composto pela somatória do vapor incluído no condicionador e na extrusão.

³ Percentual da capacidade total do motor, da amperagem máxima.

⁴ Área de vazão é uma relação da área aberta com a produtividade.

⁵ Área aberta corresponde a área total, com todos os furos abertos multiplicado pela área de um inserte.

Tabela 2. Características físico-químicas, dados médios, mínimo e máximo das amostras utilizadas no estudo (n=68).

PARÂMETROS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
Granulometria – DGM	260,0	184,00	309,00	34,90
Atividade de água produto pré-extrusão	0,380	0,310	0,460	0,040
Matéria seca produto pré-extrusão (g/kg)	926,50	916,00	937,25	4,750
Matéria mineral produto pré-extrusão (g/kg)	93,40	67,20	120,42	12,03
Teor de acidez produto pré-extrusão (mgKOH/Kg)	3,150	1,380	5,430	0,870
Peróxido produto pré-extrusão (mEq/kg)	1,640	0,000	11,63	3,420
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca no produto pré-extrusão (g/kg)	720,75	556,90	829,66	64,77
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica no produto pré-extrusão (g/kg)	701,13	532,00	821,92	68,96
Atividade de água do produto acabado	0,510	0,420	0,600	0,050
Teor de matéria seca do produto acabado (g/kg)	943,27	927,25	961,75	7,380
Teor de matéria mineral do produto acabado (g/kg)	92,11	68,15	115,82	13,01
Teor de proteína bruta do produto acabado (g/kg)	288,04	217,34	358,01	46,11
Teor de fibra bruta do produto acabado (g/kg)	44,33	21,39	81,76	13,09
Teor de extrato etéreo do produto acabado (g/kg)	518,79	426,94	578,92	32,76
Energia bruta do produto acabado (g/kg)	4259,98	4035,59	4557,64	154,30
Teor de ferro no produto acabado (mg/kg)	248,24	157,16	445,18	49,10
Teor de cobre no produto acabado (mg/kg)	16,49	9,690	26,20	2,990
Teor de zinco no produto acabado (mg/kg)	148,14	100,53	268,55	33,00
Teor de acidez no produto acabado (mgKOH/Kg)	1,670	0,890	3,270	0,470

Teor de peróxido no produto acabado (mEq/kg)	0,000	0,000	0,000	0,000
Teor de BHT no produto acabado (mg/kg)	46,48	19,06	90,53	15,04
Teor de BHA no produto acabado (mg/kg)	0,310	0,000	8,620	1,490
Teor de Etoxiqum no produto acabado (mg/kg)	0,720	0,000	7,900	2,020
Total de antioxidante (mg/kg)	47,51	19,06	100,77	16,52
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca do produto acabado (g/kg)	789,35	710,98	861,54	43,02
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica do produto acabado (g/kg)	779,88	696,45	852,15	46,73
Gelatinização do amido (%)	91,11	81,39	96,91	3,360

A figura 1 apresenta o espectro do material antes e após o processo de extrusão e as principais atribuições vibracionais. O intervalo espectral de 3600 a 3300 cm^{-1} corresponde a estiramento da ligação de O-H, geralmente associado a água livre, e de grupos de NH. Os estiramentos das ligações de C-H contribuem nos picos na região de 3040 a 2800 cm^{-1} , especificamente as bandas em 3010 cm^{-1} associadas a =CH, em 2919 e 2850 cm^{-1} atribuídas a vibrações assimétricas e simétricas de estiramento de CH₃ e CH₂, respectivamente, as quais podem estar associadas às moléculas de lipídeos e/ou proteínas.

O pico 1741 cm^{-1} é característico a dupla ligação entre carbono e oxigênio (C=O), referente ao grupo éster presente nos lipídeos (Raba, 2015; Lozano, 2017; Matwiczuk, 2019).

O espectro apresenta as regiões de Amida I, Amida II e Amida III nos intervalos espectrais entre 1700 e 1600 cm^{-1} , 1600 a 1500 cm^{-1} e 1330 a 1220 cm^{-1} , respectivamente. As amidas são associadas às moléculas de proteínas. Entretanto, a amida I é constituída basicamente do modo de estiramento de C=O do grupamento amina com contribuições do modo de deformação angular C-N-H.

Já as amidas II e III referem-se à deformação angular de C-N-H com contribuição do estiramento de C-N (Bier et al., 2013; Lozano, 2017). Podendo a amida III apresentar contribuições de estiramento assimétrico de PO₂- (Lee, 2018). O intervalo espectral de 1480 a 1300 cm^{-1} apresentam vibrações características de CH, podendo estar associado aos grupos funcionais de moléculas de proteínas, ácidos graxos, lipídeos e cadeias de aminoácidos, dificultando uma possível deconvolução (Lee, 2018). Ainda, nota-se picos com baixa intensidade de absorção entre 1000 e 400 cm^{-1} . Entretanto, na

região entre 1180 e 953 cm^{-1} , estão presentes as bandas referentes aos polissacarídeos, segundo Mousia (2001). Tais bandas resultam em modos vibracionais de alongamento COC e COO, associados a modos de flexão de COH (Mousia, 2001).

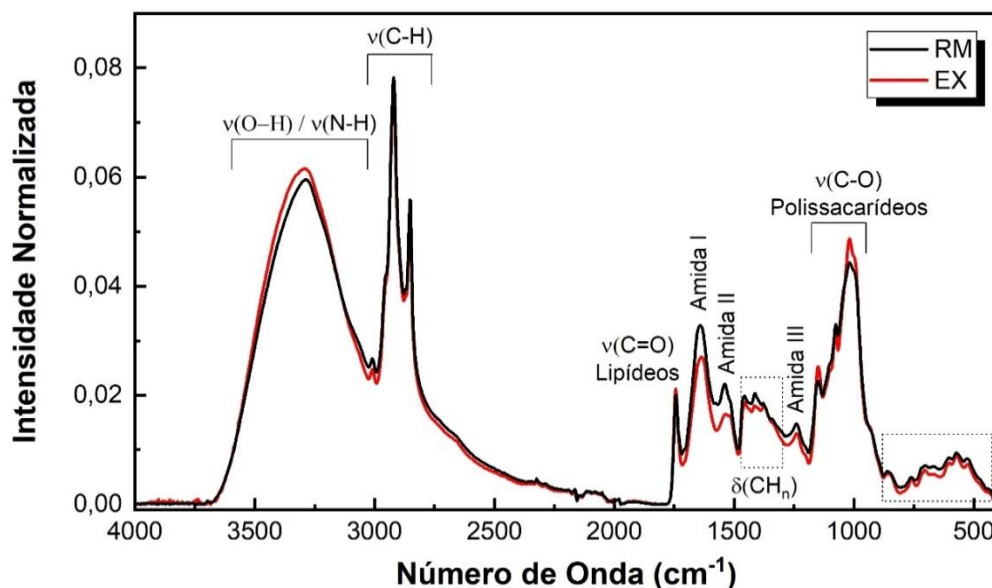


Figura 1. Espectro de FTIR-ATR das amostras pré (RM) e pós extrusão (Ex).

Análise Multivariada de Componentes Principais (ACP) de toda a região espectral, 4000 a 400 cm^{-1} , apresentada na figura 2, discriminou os espectros antes e após a extrusão, em que a pontuação do primeiro componente principal conteve 62% da variação total dos dados. Esta análise foi executada na primeira derivada dos espectros, apontando as pequenas diferenças espectrais com seus respectivos máximos e mínimos.

Ao comparar os espectros da figura 1, nota-se que não é possível observar diferenças entre as bandas, mas sim, variações nas áreas. Tais variações também foram detectáveis pela curva de carga do ACP, a qual está apresentada na figura 3. A curva de carga indica quais regiões do espectro contribuíram para as variações dos PCs. Sendo assim, esta curva evidencia maior variação na região 3030 a 2800 cm^{-1} , bem como, pico referente aos lipídeos em 1741 cm^{-1} , região de amida I e polissacarídeos.

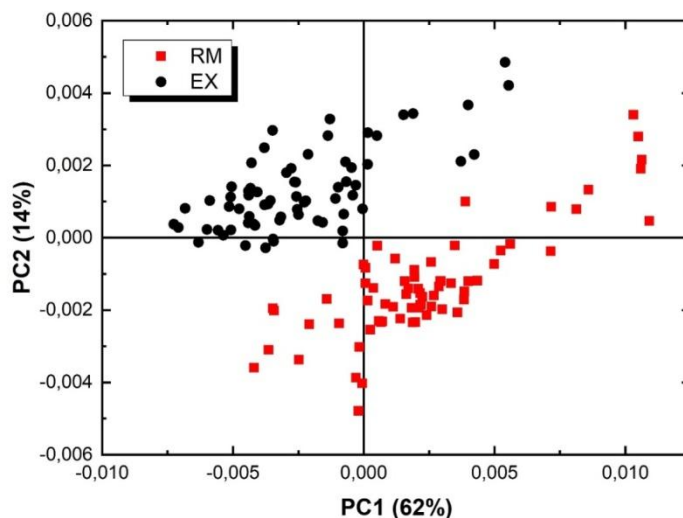


Figura 2. Gráfico de score de PC1 versus PC2, obtido da primeira derivada de todos os espectros tanto antes (RM) quanto depois da extrusão (EX).

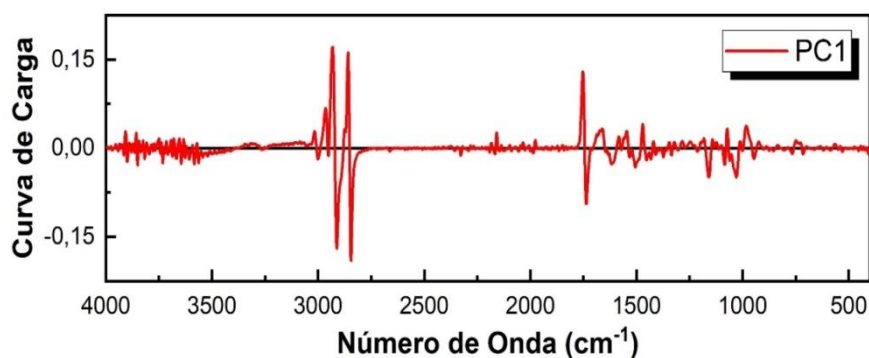


Figura 3. Curva de carga da primeira derivada dos espectros para a componente principal (PC1).

Ajustes gaussianos foram realizados na região referente à Amida I, relativa a proteínas. Esta banda contempla as estruturas secundárias/conformacionais de proteínas, sendo elas, β -turn na região de 1675 a 1670 cm^{-1} , α -hélice no intervalo espectral de 1660 a 1648 cm^{-1} , estruturas randômicas de 1648 a 1640 cm^{-1} e, por fim, β -folha entre 1637 a 1614 cm^{-1} (Bier et al., 2013; Alhazmi, 2019). A amida II e III, apesar de também ser associada às proteínas, possuem contribuições menores por sofrer influência das vibrações das cadeias laterais dos aminoácidos que as compõe, prejudicando a deconvolução da banda (Barth, 2007).

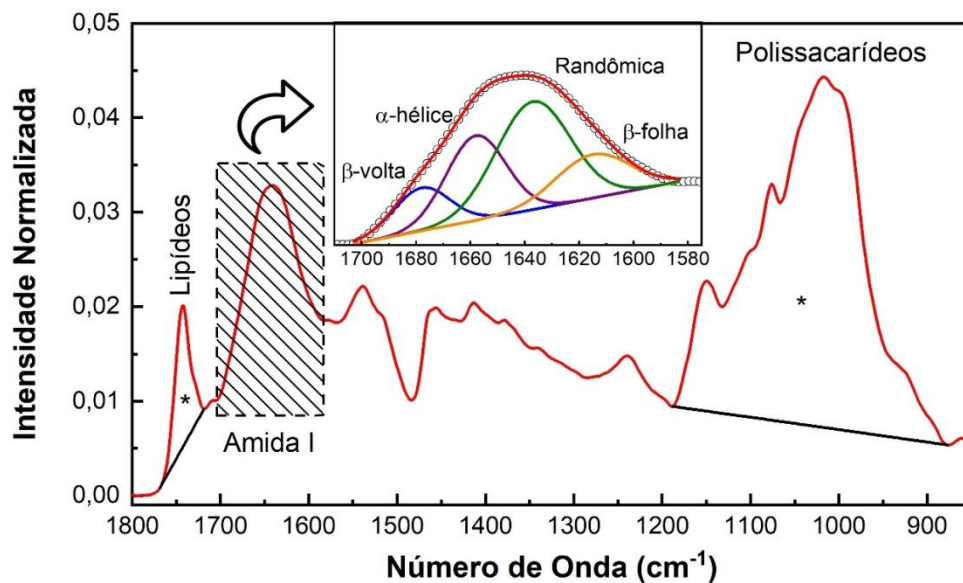


Figura 4. Áreas calculadas em “*” associadas aos picos de interesse e deconvolução da banda de Amida I para análise da estrutura secundária da proteína.

As figuras 5, 6 e 7 referem-se a concentração lipídeos, polissacarídeos e amida I, respectivamente. Esses dados foram obtidos através da avaliação da área abaixo da curva de cada uma dessas bandas, relativo a esses compostos, em relação ao produto antes e depois da extrusão. Já a figura 8, refere-se às modificações ocorridas na estrutura secundária da proteína.

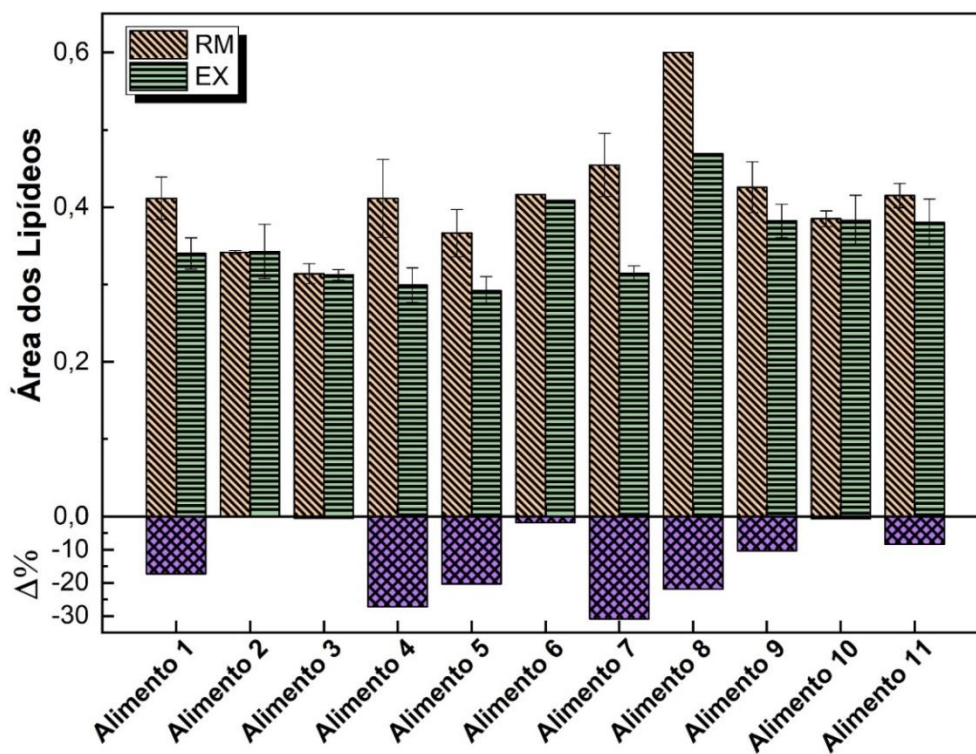


Figura 5. Área calculada para a banda dos lipídeos (1743 cm^{-1}) antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação.

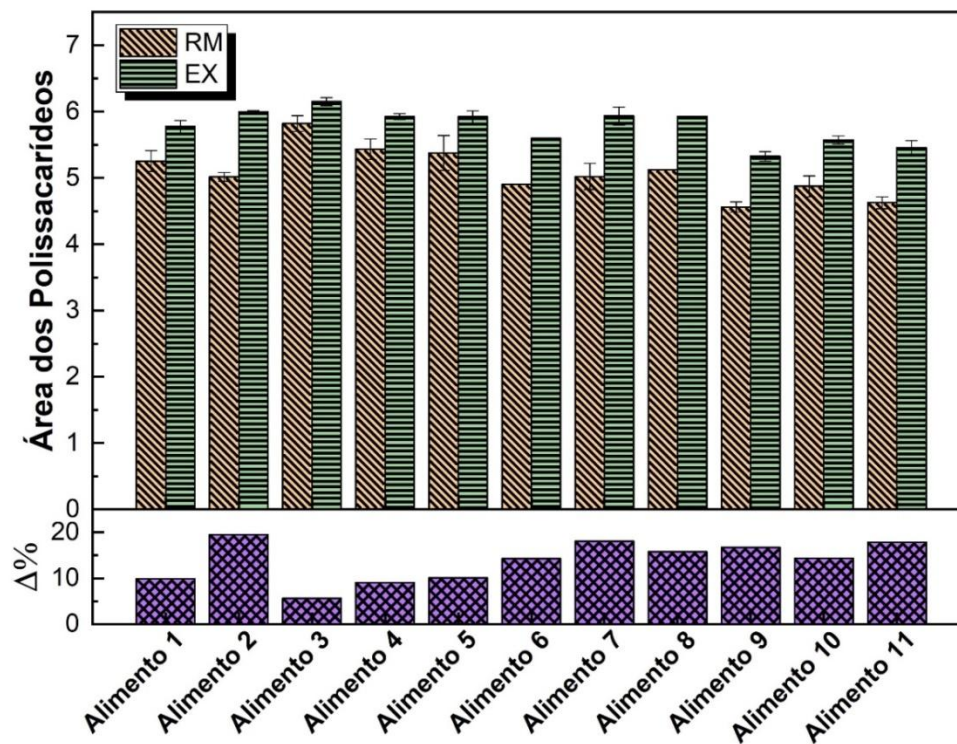


Figura 6. Área calculada para a banda dos polissacarídeos (região de 1180 e 953 cm^{-1}) antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação.

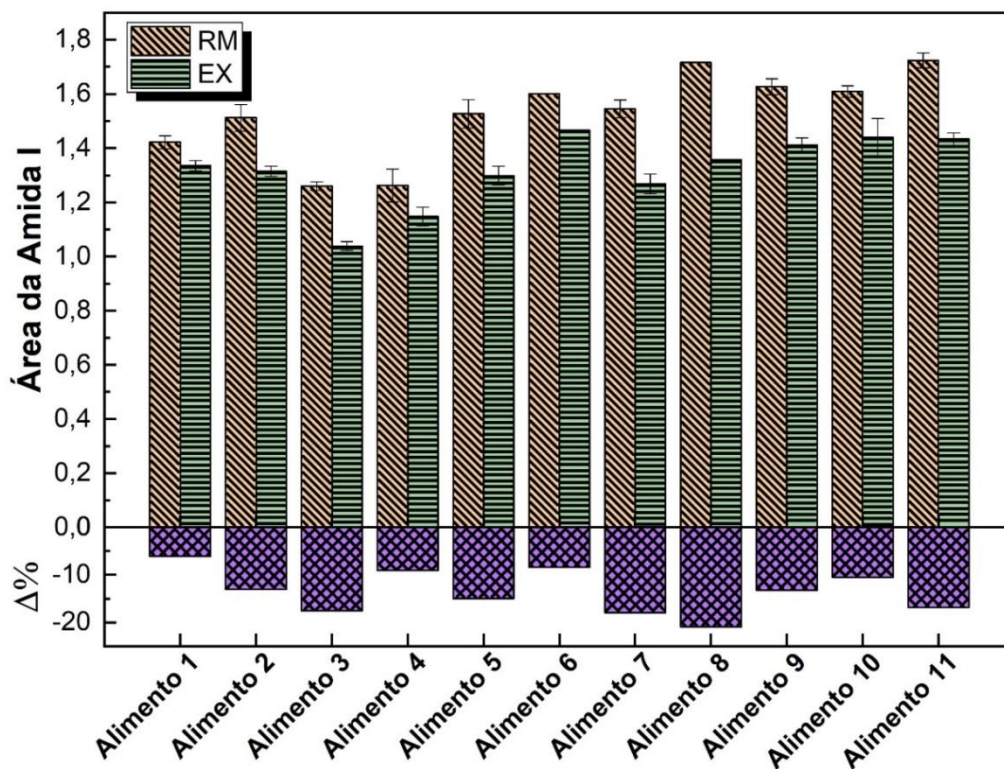


Figura 7. Área calculada para a banda da amida I, associada as proteínas, antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação

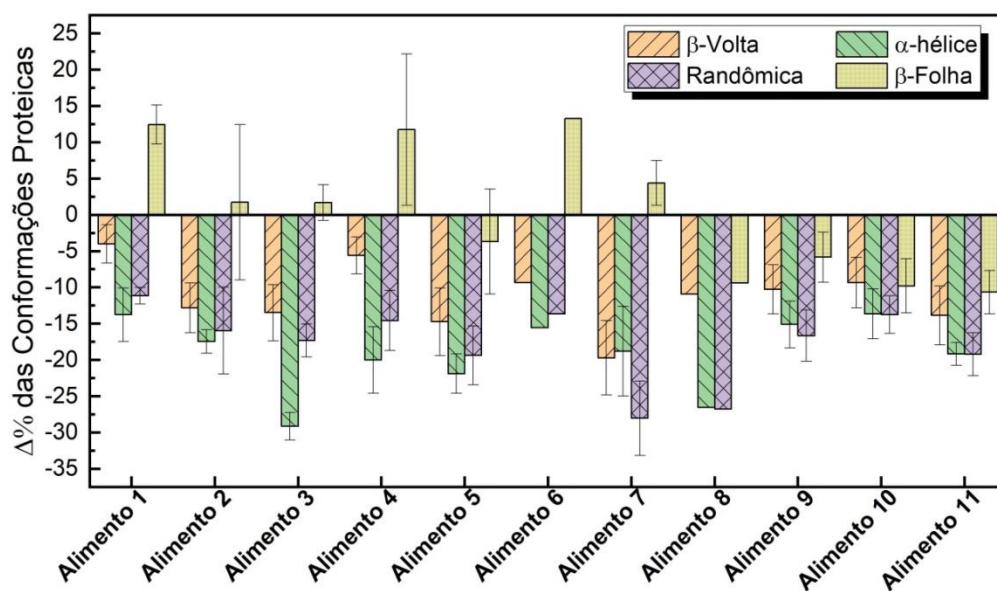


Figura 8. Área calculada para a banda de estrutura secundária da proteína, antes e após o processo de extrusão referente a cada tipo de alimento e, sua respectiva variação.

4 DISCUSSÃO

A extrusão termoplástica expõe os ingredientes a processos extremos como alta temperatura, alta pressão e forças mecânicas, que provocam grandes mudanças estruturais.

Houve redução na concentração média de lipídeos quando comparado antes e depois do processamento ($8,731 \pm 2,580$) (figura 5), na banda de amida I e amida II (1700 e 1600 cm^{-1} e 1600 a 1500 cm^{-1} , respectivamente), que estão diretamente associadas às proteínas (Bier et al., 2013; Lozano et al., 2017) (figura7), com redução de $13,24\% \pm 1,013\%$, e também nas estruturas proteicas, β -turn, α -hélice e randômica, sendo que apenas a banda de β -folha teve leve aumento na concentração em alguns dos alimentos ($0,210 \pm 1,810\%$) (figura8), assim como a de polissacarídeos que também aumentou depois do processo de extrusão ($12,34 \pm 1,172\%$) (figura 6).

Durante o processo de extrusão de alta temperatura e alto cisalhamento, ocorrem mudanças induzidas pelo processo e degradação dos componentes dos alimentos, como observado pelas mudanças espectrais após a extrusão (Figura 1). As alterações espectrais vistas nas regiões da amida I estão diretamente relacionadas à mudança de conformação da proteína e são mais comumente usadas para a análise quantitativa de sua estrutura secundária (Krimm e Bandekar, 1986; Kong e Yu, 2007).

A análise de componentes principais (Figura 2) mostra a variação no espectro do conjunto de dados (ou seja, amostras antes do processo de extrusão em comparação com extrusados), a partir do qual quaisquer alterações moleculares nos componentes podem ser discernidas. Os resultados revelam que as alterações induzidas pelo processo nos componentes da formulação durante a extrusão contribuem para as variações espectrais observadas nessas amostras.

As proteínas são polímeros constituídos por diferentes aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas. Esta cadeia linear de aminoácidos forma a estrutura primária da proteína, sendo específica para a formação de cada nova proteína. Essa conformação também é responsável por caracterizar as demais estruturas secundária, terciária e quaternária.

As principais configurações da estrutura secundária da proteína são as α -hélices e β -folha, porém também existem outras formas como a β -turn e randômica (Becker e

Yu, 2013). As estruturas α -hélices e β -folha são mantidas por ligações de hidrogênio, que se formam entre o carbonil (C=O) de um aminoácido e o grupo amino de outro (N-H).

A estrutura α -hélice é caracterizada por ser uma estrutura helicoidal que se assemelha a uma fita enrolada, devido ao padrão de ligação de hidrogênio entre si, no qual puxa a cadeia polipeptídica dando esta característica, com cada volta da hélice contendo 3,6 aminoácidos. Os grupos R dos aminoácidos se destacam da α -hélice e são livres para interagir com outras moléculas.

Algumas proteínas fibrosas, incluindo a queratina, são quase totalmente compostas por α -hélices. As proteínas transmembrana também apresentam estrutura α -hélices com propriedades hidrofóbicas específicas, permitindo permeabilidade (Berg et al., 2002; Rehman et al., 2020).

A outra estrutura secundária comum é a β -folha, esta estrutura consiste em dois ou mais segmentos de uma cadeia polipeptídica que se alinham um ao lado do outro, formando uma estrutura semelhante a uma folha mantida unida por ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio se formam entre os grupos carbonila e amino da estrutura principal, enquanto os grupos R se estendem acima e abaixo do plano da folha.

A conformação β -folha é considerada como zonas de junção entre outras estruturas e normalmente está relacionada à formação de filme, e na relação entre a conformação da proteína e suas propriedades mecânicas (Mangavel et al., 2001).

A estrutura β -folha é normalmente encontrada em proteínas agregadas, especialmente naquelas que sofreram desnaturação por calor (Susi et al., 1967). Esta estrutura tem um grau mais alto de ligações de hidrogênio intermoleculares e explica o importante papel das moléculas de água durante o processo de desdobramento redobramento (Quinn et al., 2003).

Amidas são compostos orgânicos nitrogenados que apresentam como principal característica a presença de um grupo carbonila (carbono que realiza uma ligação dupla com o oxigênio), ligado diretamente a um nitrogênio, que por sua vez, pode ligar-se a dois átomos de hidrogênio. Por tanto, as bandas de amida referem-se aos grupos vibracionais C-N-H no plano, sendo que a banda de amida I é representada mais especificamente pelas vibrações de estiramento do grupo C=O, enquanto a amida II está

associada às vibrações de alongamento C-N e modos de flexão N-H (Vieira et al., 2014; Bujok et al., 2019).

A banda correspondente à amida I depende da estrutura secundária do esqueleto da proteína e é a banda mais comumente usada para a análise quantitativa de estruturas secundárias (Carbonaro et al., 2012; Bai et al., 2015; Villanea et al., 2016). A sensibilidade da amida I para mudanças conformacionais torna possível estudar não apenas dobra e desdobramento de proteínas, mas também processos de agregação.

As regiões de amida I e amida II foram associadas com a complexação proteica, como foi observado por Guerrero et al. (2014) e Ying et al. (2017), que ao avaliar o efeito do processo de extrusão na interação proteína-polissacarídeo mostraram as alterações conformacionais da proteína nas estruturas secundárias, sendo detectáveis por FTIR resultantes das interações de proteína e outras macromoléculas durante a extrusão.

Essa complexação ocorre durante o processo de extrusão, através da desnaturação da proteína levando a diminuição das repulsões eletrostáticas e permite que ocorram interações intermoleculares e formação de novas conformações (Song et al., 2011). A desnaturação é o desdobramento de proteínas de suas estruturas terciárias ou secundárias e ocorrem quando a influência do agente desnaturante é suficientemente grande para quebrar as ligações que mantêm a estrutura unida (Kilara et al., 1986).

Como ao se desnaturarem as moléculas apresentam um estado de energia livre, elas tendem a se redobram na tentativa de minimizar essa energia e assim, ocorre a formação de novas interações (Becker e Yu, 2013).

A natureza dessas interações e a estrutura da rede formada podem afetar as propriedades macroscópicas da matriz nutricional (Guerrero et al., 2014), pois além das mudanças conformacionais, ao desnaturar a proteína expõe grupos reativos que não estavam disponíveis quando a proteína estava em sua dobra nativa (Meade et al., 2005). Estas cadeias laterais de aminoácidos também podem reagir entre si como com outros componentes alimentares.

Ao sofrer desnaturação as proteínas podem se reagrupar e formar nova estrutura denominada randômica, cuja estrutura se enrola aleatoriamente no espaço tridimensional, com conformação descrita pela função de probabilidade gaussiana (Flory, 1953; Meade et al., 2005; Carbonaro et al., 2012). As características desta

conformação dependem intrinsecamente das características moleculares da cadeia polipeptídica da proteína.

Segundo Villanea et al. (2016), ao fazerem revisão bibliográfica sobre as mudanças estruturais nas proteínas devido a efeitos de processamento, observaram que a formação da estrutura randômica ocorre em detrimento das estruturas α -hélice e β -folha em feijão vermelho, lentilha, grão de bico e soja, quando aquecidas em autoclave (120°C) por 30 minutos, esse aumento na concentração demonstra que ocorreu desnaturação da proteína, possibilitando um rearranjo molecular.

Entretanto não foi observado no presente trabalho a formação de uma estrutura em função do decréscimo de outra, apenas a estrutura β -folha teve leve aumento, isso pode ter acontecido, pois a composição nutricional das dietas inclui ingredientes que são previamente processados como as farinhas de origem animal, que passam por tratamento térmico prévio, que pode ter provocado essas alterações moleculares anteriormente.

Foi observado aumento na digestibilidade *in vitro* após o processamento variando de 2 a 6%, devido à diminuição na concentração da estrutura β -folha intramolecular e o aparecimento desta conformação entre as moléculas, observada nos espectros de FTIR (Carbonaro et al., 2012). Entretanto, segundo os autores, é possível que esse aumento na digestibilidade possa ter sido provocado pela inativação de inibidores da protease.

Bai et al. (2015) também observaram essa queda na digestibilidade *in vitro* relacionada a concentração de estrutura β -folha, ao avaliar farelo de soja, farinha de peixe, milho DDGS, farelo de glúten de milho e farinha de penas, sendo que as estruturas α -hélice e randômica tiveram efeito positivo para a digestibilidade, entretanto estes são dados preliminares sendo necessário mais dados para avaliar a importância deste tipo de estrutura.

Compostos químicos formados por carbono, hidrogênio e oxigênio combinados na razão expressa por $C_n(H_2O)_n$ são, geralmente denominados de carboidratos e podem ser classificados em três subgrupos, monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (Wiercigroch et al., 2017).

Os polissacarídeos por sua vez, são estruturas formadas por cadeias de monossacarídeos, pelo menos 10, ligados entre si por ligações glicosídicas, que são

ligações covalentes resultantes da condensação de dois monossacarídeos. Eles formam cadeias lineares ou ramificadas principalmente por meio de ligações glicosídicas α 1-4 e α 1-6. Os principais polissacarídeos são o amido, celulose e glicogênio.

A região espectral que corresponde ao pico de polissacarídeos está entre 1180 e 953 cm^{-1} (Mousia et al., 2001) (Figura 1), bandas essas relacionadas a vibração de C-O-C e devido às vibrações de alongamento simétrico CC e CO na faixa de 1000-1200 cm^{-1} . A variação percentual comparando antes do processamento com após processamento indica que houve aumento em sua concentração $12,34 \pm 1,17\%$.

O amido é composto por dois polímeros: amilose e amilopectina (Coultate, 2002), sendo que, a amilose é formada de cadeia linear de D-glicose (com ligações α -1-4) e a amilopectina é uma cadeia linear de D-glicose com ligações α - (1-4) ramificadas a cada 20 ou 21 unidades com links α - (1-6) (Tester et al., 2004), por não apresentar ramificações, a amilose pode interagir com outras moléculas, por exemplo, a amilose-amilose e amilose-lipídeo (Cervantes-Ramírez et al., 2020).

A formação desses complexos ocorre principalmente quando o amido é aquecido e posteriormente resfriado. A estrutura em dupla hélice da amilose se expande com o calor, permitindo que o lipídio se encaixe, formando ligações eletrostáticas para obter estabilidade (Cervantes-Ramírez et al., 2020).

Esses complexos amilose-lipídeo podem causar modificações funcionais no comportamento físico e químico do amido, mudando sua capacidade de absorção, solubilidade, capacidade de expandir e conseqüentemente na viscosidade (Obiro et al., 2012).

Além da formação de complexos amilose-lipídeo, também é possível que proteína e polissacarídeo formem conjugados de ingredientes, o que melhoraram propriedades funcionais, como estabilidade de calor e pH, solubilidade, propriedades de emulsificação e gelificação, oferecendo menor adstringência e alergenicidade em comparação com proteínas não modificadas (Guerreiro et al., 2012).

Com aumento da disponibilidade de interações moleculares é possível que ocorra alterações das bandas de amida I e II à medida que polissacarídeos são adicionados às misturas de ingredientes, o que pode auxiliar na estabilização da proteína, uma vez que em contato com os polissacarídeos pode governar as mudanças estruturais ocorridas durante o processo de extrusão (Guerreiro et al., 2014).

A diminuição na intensidade das bandas de α -hélice, β -folha e β -turn devido a inclusão de polissacarídeos celulose microcristalina e inulina também foi observado por

Nawrocka et al. (2018). Eles encontram diferenças na posição das bandas dependendo da concentração dos polissacarídeos incluídos, devido as essas fontes de carboidrato diferirem entre si na sua composição.

As principais mudanças no espectro de polissacarídeos foram altamente relacionadas às alterações de estrutura física dos extrusados como a taxa de expansão e densidade, em produtos extrusados a base de farinha de aveia de arroz e aveia de milho, indicando mudança conformacional provocadas pelo processamento na estrutura do carboidrato (Ying et al., 2017).

Entretanto, neste trabalho isso não foi observado pois como utilizados alimentos com finalidades diferentes, como alimento para cães filhote, adultos e para gatos, as taxas de expansão e a densidade foram diferentes, não sendo possível associar apenas com o efeito dos polissacarídeos, porém esse é um efeito de importância dentro da indústria e por isso se faz necessário maior investigação.

Os lipídeos estão presentes em quase todas as matérias-primas alimentícias, sendo as principais classes os triglicerídeos e os fosfolipídios. A fração lipídica dos alimentos está ligada diretamente a qualidade do produto, pois a mesma tem relação com as propriedades organolépticas, como aroma, cor, sabor, textura, suculência, estabilidade das proteínas e vida de prateleira. Além de ser fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (Ferrari, 1998; Silva et al., 1999).

Os ácidos graxos estão caracterizados na região de 3040 a 2800 cm^{-1} , que contempla picos de ligações do tipo cis entre C=CH e estiramentos simétricos e assimétricos de metil (CH_3) e metileno (CH_2) (Lozano et al., 2017).

As ligações de ésteres entre glicerol e ácidos graxos podem ser detectadas pela alta absorção da carbonila (C=O), localizada no pico em 1743 cm^{-1} (Lozano et al., 2017). Nesta região ocorreu redução após a extrusão de 8,725% \pm 2,601%, podendo significar a quebra das duplas ligações ocasionadas devido à oxidação, no qual as duplas ligações podem sofrer quebra, provocada pelo calor do processamento.

Análise de espectroscopia foi utilizada para avaliar o efeito da oxidação lipídica em emulsão de óleo de peixe em água (Daoud et al., 2019) e variações foram observadas em diferentes regiões espectrais, como por exemplo, houve aumento na banda de peróxido (hidroxil), grupo metil e metileno também aumentaram e o grupo carbonila diminuiu na banda em 1747 cm^{-1} , porém aumentou na banda em 1161 cm^{-1} .

Essas correlações confirmam que a espectroscopia FTIR é um método rápido e simples para medir as principais modificações ocorridas em macromoléculas, como por

exemplo, a oxidação de lipídios em alimentos e a complexação proteína carboidrato e carboidrato lipídeo, entretanto ainda são necessárias mais investigações sobre o efeito que o processamento pode provocar nestas alterações.

5 CONCLUSÃO

A análise de FTIR mostrou ser uma ferramenta eficiente para demonstrar as mudanças moleculares induzidas pelo processo para os principais componentes nas misturas e suas interações durante a extrusão. As principais mudanças ocorreram nas bandas referentes aos lipídeos (3040 a 2800 cm^{-1}), amidas (I e II) (entre 1700 e 1500 cm^{-1}) e polissacarídeos (1180 e 953 cm^{-1}). É possível que estas modificações ocorram pelo processo oxidativo e de complexações entre estas moléculas.

Estudos futuros são necessários para validar a relação dos efeitos de processo sobre as mudanças nas macromoléculas e componentes em formulações após extrusão.

6. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da bolsa de estudo, à Special Dog Company pelo financiamento deste projeto, à Finep (Financiadora de Estudos e Projeto), e ao Comcap-UEM.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alam, M. S., Kaurb, J., Khairab, H., Guptab, K. 2015. Extrusion and extruded products: Changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

Alhazmi, H. A. 2019. FT-IR Spectroscopy for the Identification of Binding Sites and Measurements of the Binding Interactions of Important Metal Ions with Bovine Serum Albumin. *Sci. Pharm.* 87, 5. <https://doi.org/10.3390/scipharm87010005>.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *Official methods of analysis*. 18th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Bai, M., Qin, G., Sun, Z., Long, G. 2015. Relationship between molecular structure characteristics of feed proteins and protein *in vitro* digestibility and solubility. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 29, 1159-1165. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.15.0701>.

Barth, A. 2007. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics.* 1767, 1073–1101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>.

Barriuso, B., Astiasarán, I., Ansorena, D. 2013. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *European Food Research and Technology*, 236(1), 1-15.

Becker, P. M., Yu, P. 2013. What makes protein indigestible from tissue-related, cellular, and molecular aspects? *Molecular Nutrition and Food Research.* 57, 1695–1707. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201200592>.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. 2002. Secondary structure: Polypeptide chains can fold into regular structures such as the alpha helix, the beta sheet, and turns and loops. In *Biochemistry* (5th ed., section 3.3). New York, NY: W. H. Freeman. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22580/>.

Bier, J. M., Verbeek, C. J. R., Lay, M. C. 2013. Using synchrotron FTIR spectroscopy to determine secondary structure changes and distribution in thermoplastic protein. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(1), 359-369.

Bujok, J., Gasior-Glogowska, M., Marszalek, M., Trochanowska-Pauk, N., Zigo, F., Pavl'ak, A., Komorowska, M., Walski, T. 2019. Applicability of FTIR-ATR Method to Measure Carbonyls in Blood Plasma after Physical and Mental Stress. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2019/2181370>.

Carbonaro, M., Maselli, P., Nucara, A. 2012. Relationship between digestibility and secondary structure of raw and thermally treated legume proteins: a Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopic study. *Amino Acids* 43, 911–921. <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-011-1151-4>.

Cervantes-Ramírez, J. E., Cabrera-Ramirez, A. H., Sánchez, E. M., García, M. E. R., Vega, M. de la L.R., Jiménez, A. K. R., Jiménez, B. L. C., Martínez, M. G. 2020. Amylose-lipid complex formation from extruded maize starch mixed with fatty acids. *Carbohydrate Polymers.* 246, 116555. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116555>

Choi, S.M., Ma, C.Y. 2005. Conformational study of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) by Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. *J Agric Food Chem.* 53:8046–8053.

Coultrate, T. P. 2002. *Food: The chemistry of its componentes.* Tom P..Royal Society of Chemistry.

Daoud, S., Bou-marouna, E., Dujourdyb, L., Waschatkoc, G., Billeckec, N., Cayot. P., 2019. Fast and direct analysis of oxidation levels of oil-in-water emulsions using ATR-FTIR. *Food Chemistry.* 293, 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.005>.

Ferrari, C. K. B. 1998. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista Nutrição, Campinas.* 11, 3-14.

Flory P J. *Principles of Polymer Chemistry.* Ithaca, NY: Cornell Univ. Pressione; 1953.

Fukushima, D., Van Buren, J. 1970. Effect of physical and chemical processing factors on the redispersibility of dried soy milk proteins. *Cereal Chemistry.* 47,571–578.

Guerrero, P., Beatty, E., Kerry, J. P., de la Caba, K. 2012. Extrusion of soy protein with gelatin and sugars at low moisture content. *Journal of Food Engineering.* 110,53–59.

Guerrero, P., Kerry, J. P., de la Caba, k. 2014. FTIR characterization of protein–polysaccharide interactions in extruded blends. *Carbohydrate Polymers,* 111, 598–605.

Gilbert, V., Rouabhia, M., Wang, H., Arnould, A. L., Remondetto, G., & Subirade, M. 2005. Characterization and evaluation of whey protein-based biofilms as substrates for in vitro cell cultures. *Biomaterials,* 26, 7471–7480.

Holse, M., Larsen, F. H., Hansen, Å., Engelsen, S. B. 2011. Characterization of marama bean (*Tylosema esculentum*) by comparative spectroscopy: NMR, FT-Raman, FT-IR and NIR. *Food Research International,* 44(1), 373-384.

Kilara, A., Sharkasi, T. Y., Morr, C. V. 1986. Effects of temperature on food proteins and its implications on functional properties. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 23:4, 323-395. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398609527429>.

Kong, J., Yu, S. 2007. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica,* 39(8), 549–559.

Krimm, S., Bandekar, J. 1986. Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides, and proteins. *Advances in Protein Chemistry*, 38, 181–364.

Lee B-J., Zhou, Y., Lee J. S., Shin, B. K, Seo, J-A., Lee, D., Kim, Y-S.,Choi, H-K. 2018. Discrimination and prediction of the origin of Chinese and Korean soybeans using Fourier transform infrared spectrometry (FT-IR) with multivariate statistical analysis. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196315>.

Lozano, M., Rodríguez-Ulibarri, P., Echeverría, J. C., Beruete, M., Sorolla, M., Beriain, M. J. 2017. Mid-infrared spectroscopy (MIR) for simultaneous determination of fat and protein content in meat of several animal species. *Food Analytical Methods*, 10(10), 3462-3470.

Mangavel, C., Barbot, J., Popineau, Y., Gueguen, J. 2001. Evolution of wheat gliadins conformation during film formation: A Fourier transform infrared study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 867–872.

Matwijczuk, A., Oniszczyk, T., Matwijczuk, A., Chruściel, E., Kocira, A., Niemczynowicz, A., Wójtowicz, A., Combrzyński, M., Wiącek, D. 2019. Use of FTIR Spectroscopy and Chemometrics with Respect to Storage Conditions of Moldavian Dragonhead Oil. *Sustainability*. 11, 22, 6414. <https://doi.org/10.3390/su11226414>.

Meade, S. J., Reid, E. A., Gerrard, J. A. 2005. The impact of processing on the nutritional quality of food proteins. *Journal of AOAC International*. 88, 904–922.

Mousia, Z., Farhat, I. A., Pearson, M., Chesters, M. A., Mitchell J. R. 2001. FTIR microspectroscopy study of composition fluctuations in extruded amylopectin–gelatin blends. *Biopolymers (Biospectroscopy)*. 62, 208–218.

Nawrocka, A., Krekora, M., Niewiadomski, Z., Miś, A. 2018. FTIR studies of gluten matrix dehydration after fibre polysaccharide addition. *Food Chemistry*. 252. 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.110>.

Obiro, W. C., Sinha Ray, S., Emmambux, M. N. 2012. V-amylose structural characteristics, methods of preparation, significance, and potential applications. *Food Rev. Int*. 28, 412–438. <https://doi.org/10.1080/87559129.2012.660718>.

Quinn, G., Monahan, F. J., O’Sullivan, M., Langares, A. 2003. Role of covalente and noncovalent interactions in the formation of films from unheated whey protein solutions following pH adjustment. *Journal of Food Science*. 68, 2284–2288.

Raba, D. N., Poiana, M.A., Borozan, A. B., Stef, M., Radu, F., Popa, M. V. 2015. Investigation on crude and high-temperature heated coffee oil by atr-ftir spectroscopy along with antioxidant and antimicrobial properties. PLoS ONE 10(9): e0138080. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138080>.

Rehman, I., Farooq, M., Botelho, S. 2020. Biochemistry, Secondary Protein Structure. [Atualizado em 18 de dezembro de 2020]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Janeiro de 2020 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470235/>.

Riaz, M. N. (ed.). Extruders in food applications. Boca Raton: CRC Press, 2000.

Secundo, F., Guerrieri, N. 2005. ATR-FT/IR study on the interactions between gliadins and dextrin and their effects on protein secondary structure. J Agric Food Chem 53:1757–1764.

Silva, F. A. M., Borges, M. F. M., Ferreira, M. A. 1999. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. Química Nova. 22, 94-103.

Song, F., Tang, D. L., Wang, X. L., Wang, Y. Z. 2011. Biodegradable soy protein isolate-based materials: A review. Biomacromolecules, 12, 3369–3380.

Susi, H., Timasheff, S. N., Stevens, L. 1967. Infrared spectra and protein conformations in aqueous solutions: I. The amide I band in H₂O and D₂O solutions. Journal of Biological Chemistry. 242, 5460–5466.

Tester, R. F., Karkalas, J., Qi, X. 2004. Starch—Composition, fine structure and architecture. Journal of Cereal Science. 39, 151–165. <https://doi.org/10.1016/j.jcs>.

Vieira, E. F. S., Cestaria, A. R., Chagasa, R. A., Cortes, G. K. da R. 2014. Obtenção e caracterização de matriz apropriada para sistemas de liberação prolongada – estudos de liberação dos herbicidas atrazina e diuron. Química Nova. 37, 398-403. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140074>.

Villanea, S. S., Hendriks, W., Bruininx, E., Gruppen, H., Van der Poel, A. 2016. Protein structural changes during processing of vegetable feed ingredients used in swine diets: Implication for nutritional value. Nutrition Research Reviews. 29, 126-141. <https://doi.org/10.1017/S0954422416000056>.

Wang, C. H., Damodaran, S. J. (1991). Thermal gelation of globular proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39, 433–438.

Wiercigroch, E., Szafraniec, E., Czamara, K., Pacia, M. Z., Majzner, K., Kochan, K., Kaczor, A., Baranska, M., Malek, K. 2017. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. [https://doi.org/ 10.1016/j.saa.2017.05.045](https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045).

Yasar, S., Tosun, R., Sonmez, Z., 2020. Fungal fermentation inducing improved nutritional qualities associated with altered secondary protein structure of soybean meal determined by FTIR spectroscopy. *Measurement*. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.107895>

Ying, D., Hlaing, M. M., Lerisson, J., Pitts, K., Cheng, L., Sanguansri, L., & Augustin, M. A. 2017. Physical properties and FTIR analysis of rice-oat flour and maize-oat flour based extruded food products containing olive pomace. *Food Research International*. 100, 665-673. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.062>.