CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MOLECULARES OCORRIDAS NA EXTRUSÃO EM PET FOOD POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER ACOPLADO A REFLEXÃO TOTAL ATENUADA

MÔNICA ESTELA ZAMBON MERENDA[1], MARIANA S. GIBIN[2], JOYCE SATO[1], CAMILLA Y. L. OGAWA[2], KATIANI VENTURINI[3], FRANCIELLE SATO[2] E RICARDO S. VASCONCELLOS[1]

1Universidade Estadual de Maringá (PPZ-UEM);2 Universidade Estadual de Maringá (PFI-UEM).3 Special Dog Company, Santa Cruz do Rio Pardo, SP.
Contato: mezmerenda@gmail.com

Resumo: A extrusão é um processo complexo que emprega temperatura, pressão e umidade, que modifica as estruturas do alimento, seu valor nutricional, vida útil e características organolépticas. Apesar disto, são poucas as ferramentas que permitem caracterizar as modificações em nível molecular. Neste trabalho objetivou-se o emprego da Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier acoplado Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR) na caracterização de alterações de macromoléculas ocasionadas pelo processo de extrusão. Para isto, foram coletadas e analisadas, misturas pré extrusão (A) e alimento pronto após a secagem (AR) em 68 amostras, de alimentos comerciais para cães e gatos. 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}, 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.
PalavrasChaves: análise multivariada; FTIR-ATR; lipídeo; processamento; proteína.

CHARACTERIZATION OF MOLECULAR CHANGES OCCURRED IN PET FOOD EXTRUSION BY INFRARED SPECTROSCOPY BY FOURIER TRANSFORM COUPLED TO ATTENUATED TOTAL REFLECTION

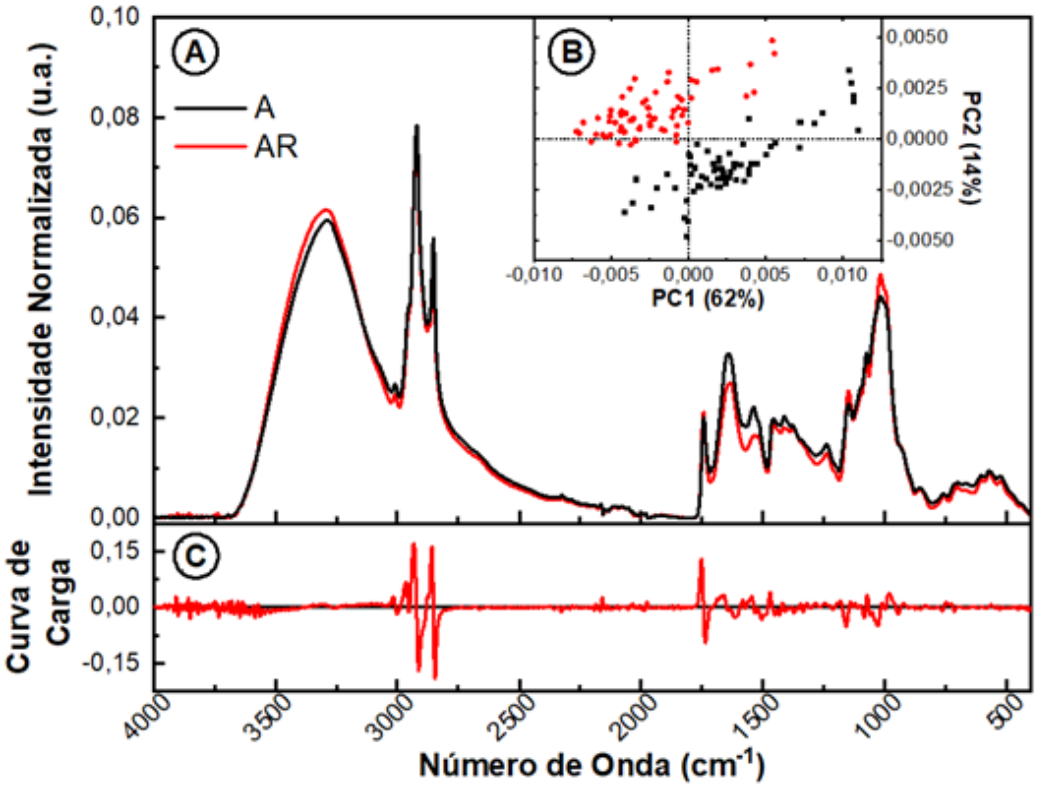
Abstract: Extrusion is a complex process that uses temperature, pressure and humidity, which changes the structures of the food, its nutritional value, shelf life and organoleptic characteristics. Despite this, there are few tools that allow characterizing the changes at the molecular level. This work aimed to employ Fourier Transform Infrared Spectroscopy coupled with Total Attenuated Reflection (FTIR-ATR) in the characterization of changes in macromolecules caused by the extrusion process. For this, pre-extrusion mixtures (A) and ready-to-dry food (AR) were collected and analyzed in 68 samples of commercial food for dogs and cats. The region belonging to fatty acids and ester bonds between glycerol and fatty acids recorded greater sample variability in the spectral region from 3040 to 2800 cm^{-1} and the peak at 1743 cm^{-1}, 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 oxidation of lipids and proteins, conformational changes in proteins and complexation processes.
Keywords: multivariate analysis; FTIR-ATR; lipid; processing; protein.

Introdução: Durante a produção de *Pet food*, os ingredientes passam por modificações estruturais, devido às altas temperaturas, pressão, umidade, ao atrito causado pelo cisalhamento e ainda ao elevado fluxo de ar durante a secagem, pontos críticos que apresentam importantes efeitos na qualidade do produto final (Guerrero, Kerry, & de la Caba, 2014). As principais modificações estruturais são: gelatinização do amido, desnaturação de proteínas, oxidação dos lipídios e processos de complexação molecular (Alam et al., 2015). Entretanto, são poucas as ferramentas práticas que permitem caracterizá-las ou quantificá-las. A espectroscopia FTIR é uma técnica que permite o estudo da composição química, estrutura molecular e suas interações (Holse et al., 2011). Apresenta vantagens por precisar de pouca amostra, ser rápida, não utiliza reagentes, além da elevada acurácia. Diante do exposto, neste trabalho caracterizou-se as alterações macromoleculares ocorridas durante a extrusão pela técnica de FTIR-ATR.

Material e Métodos: Acompanhou-se o fluxograma de produção de duas linhas de extrusão em uma empresa que produz alimentos completos extrusados para cães e gatos, sendo coletadas ao todo 68 amostras de 11 diferentes alimentos extrusados. As amostras foram coletadas da mistura pré extrusão diretamente do misturador (A) e do produto após a saída do secador (AR). Para cada amostra foram realizadas quatro coletas durante o dia, de acordo com o volume de produção, então após um dia de coleta formou-se uma amostra única. As análises de espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier acoplado reflexão total atenuada (FTIR-ATR) foram realizadas nas amostras A e AR em um espectrômetro Bruker Vertex 70v FTIR (Bruker Optik GmbH, Ettilingen, DEU) com um acessório de refletância atenuada (ATR). Os espectros foram obtidos de 4000 a 400 cm-1 com uma resolução espectral de 4 cm^{-1}. Os espectros obtidos para cada uma das amostras são compostos por uma média de 64 varreduras sendo todas as medidas realizadas à temperatura de 25°C. Todos foram normalizados pela 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).

Resultado e Discussão: O espectro de uma amostra antes e após passar pela extrusora é mostrado na Fig.1A. Análise

multivariada de componentes principais (ACP) foi aplicada nos espectros em todo o intervalo espectral, diferenciando os dois grandes grupos (antes e após processo), indicando que todos os alimentos sofreram significativas mudanças moleculares durante o processamento (Fig. 1B). A curva de carga (Fig. 1C) indica regiões espectrais que tiveram maior variabilidade e consequentemente, maior contribuição na separação dos componentes principais (CPs). Dentre elas, a região de 3040 a 2800 cm^{-1}, caracterizada pelos ácidos graxos, a qual contempla picos de ligações do tipo cis entre C=CH e estiramentos simétricos e assimétricos de metil e metileno (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}. Nesta região ocorreu uma redução após a extrusão de 8,72 ± 2,60%, podendo significar a quebra das duplas ligações ocasionadas pela oxidação, devido ao calor do processamento. Também ocorreu mudanças nas regiões 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), com redução de 13, 24 ± 1,01%, associada com a complexação proteica, como foi observado por Ying et al. (2017) e Guerrero, Kerry, & de la Caba, (2014), que mostraram as alterações conformacionais da proteína nas estruturas secundárias. Por fim, polissacarídeos contribuem para a diferenciação espectral na região entre 1180 e 953 cm^{-1}.



Conclusão: A análise de FTIR mostrou-se eficiente para demonstrar as mudanças moleculares ocorridas nos alimentos pré e pós extrusão, sendo que essas 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 tenham ocorrido pelo processo oxidativo e de complexações entre estas moléculas.

Agradecimentos: Special Dog Company pelo financiamento deste projeto; à Finep (Financiadora de Estudos e Projeto) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da bolsa de estudo.

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