

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**TESE**

**EFEITO DOS PARÂMETROS DE EXTRUSÃO  
TERMOPLÁSTICA NA MICROESTRUTURA E  
PROPRIEDADES FÍSICAS DO *GRITS* DE MILHO**

**José Arturo Romero Rodríguez**

**2021**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**EFEITO DOS PARÂMETROS DE EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA NA  
MICROESTRUTURA E PROPRIEDADES FÍSICAS DO *GRITS* DE  
MILHO**

**JOSÉ ARTURO ROMERO RODRÍGUEZ**

*Sob a Orientação do Professor D.Sc.*  
**José Luis Ramírez Ascheri**

*e Co-orientação do Professor D.Sc.*  
**Artur Jorge da Silva Lopes**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica - RJ  
Dezembro de 2021

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R696e      Rodríguez, José Arturo Romero , 1946-  
            Efeito dos parâmetros de extrusão termoplástica na  
microestrutura e propriedades físicas do grãos de  
milho / José Arturo Romero Rodríguez. - Seropédica,  
2021.  
            108 f.

            Orientador: José Luis Ramírez Ascheri.  
            Coorientador: Artur Jorge da Silva Lopes.  
            Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos, 2021.

            1. Eletroforese. 2. Microscopia eletrônica de  
varredura. 3. Carotenoides. 4. Energia mecânica  
específica. 5. Propriedades físicas. I. Ramírez Ascheri,  
José Luis , 1955-, orient. II. da Silva Lopes, Artur  
Jorge , -, coorient. III Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência  
e Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal  
de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS



TERMO Nº 1017/2021 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.068595/2021-66

Seropédica-RJ, 22 de setembro de 2021.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JOSÉ ARTURO ROMERO RODRÍGUEZ

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de doutor, no Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.  
Tese APROVADA EM 26/08/2021.

JOSÉ LUIS RAMIREZ ASCHERI (Dr) orientador - EMBRAPA

JUÁREZ VICENTE (Dr) Instituto Federal Catarinense

MANUEL SALVADOR VICENTE PLATA OVIEDO (Dr) UTFPR

RENATA TORREZAN (Dra) EMBRAPA

MARIA IVONE MARTINS JACINTHO BARBOSA (Dra) UFRRJ

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020.

*Documento não acessível publicamente*

*(Assinado digitalmente em 27/09/2021 10:39)*  
MARIA IVONE MARTINS JACINTHO BARBOSA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DTA (12.28.01.00.00.00.46)  
Matricula: 1524368

*(Assinado digitalmente em 06/10/2021 21:05)*  
MANUEL SALVADOR VICENTE PLATA OVIEDO  
ASSINANTE EXTERNO  
Passaporte: C01691985

*(Assinado digitalmente em 23/09/2021 13:16)*  
JOSE LUIS RAMIREZ ASCHERI  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 105.290.788-13

*(Assinado digitalmente em 23/09/2021 00:00)*  
RENATA TORREZAN  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 102.106.628-16

*(Assinado digitalmente em 28/09/2021 08:33)*  
JUAREZ VICENTE  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 046.356.469-39

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **1017**, ano: **2021**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **22/09/2021** e o código de verificação: **6481dad602**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta tese a minha esposa e filhos Catalina e José Sebastian.

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade concedida para realizar o curso.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, pelas instalações cedidas para a execução do presente estudo.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Luis Ramírez Ascheri pela amizade e ensinamentos.

Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Arthur Jorge da Silva Lopes, pela amizade, ensinamentos e visão da física como uns dos aportes complementar do doutorado, da mesma forma ao Prof. Dr. Marcelo Nunes, do laboratório de Física – LDMS-UFRRJ.

Ao meu Prof. Dr. Carlos Wanderlei Piler de Carvalho pela amizade e ensinamentos.

Ao meu querido e admirado Pesquisador Dr. Rogerio Germani, pelos ensinamentos e grande espiritualidade.

À Pesquisadora, Dra. Cristina Takeiti pela amizade e fazer disso um espaço de compartilhamento nossas maravilhosas nacionalidades.

Aos Analistas e Técnicos da Planta Piloto IV de Embrapa Agroindústria de Alimentos: Mariana Mattos, Adriana Minguita, Francisco Carlos de Oliveira e Neuri Menezes, pela amizade, acolhida, orientação e contribuição durante as análises.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em especial à Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Ivone Barbosa, por incentivar e acreditar em mim desde o início.

A meus colegas e amigos: Dr. Arturo Meléndez, Dr. Jhony William Vargas Solórzano, Dr. Juarez Vicente e Dr. Leandro Cappato pela amizade e companheirismo.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a finalização deste projeto.

## RESUMO GERAL

ROMERO RODRÍGUEZ, José Arturo. **Efeito dos parâmetros de extrusão termoplástica na microestrutura e propriedades físicas do *grits* de milho**. 2021. 108 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

Este trabalho teve por objetivo geral estudar as diferentes mudanças que possam ocorrer com o processo de extrusão tais como a parte estrutural do material processado, os efeitos na parte proteica através do estudo em eletroforese e inclusive com os carotenoides por cromatografia, bem com as propriedades físicas de expansão em função de mudança de parâmetros tais como umidade e temperatura de processamento. No capítulo 1, apresenta-se uma revisão relacionada ao tema da Tese, na qual se abordam tópicos do processo de extrusão, tais como fenômenos físicos e químicos por ocasião das mudanças do tratamento termomecânico, características das determinações por eletroforese nas observações obtidas nas bandas proteicas. Aspectos relacionados às observações por microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura (MEV), entre outros aspectos. No capítulo 2 teve por objetivo verificar o efeito da umidade e temperatura sobre a microestrutura de expandidos de *grits* de milho. O *grits* de milho normal foi processado a 15, 18 e 21% de umidade a temperaturas que variaram de 120, 140 e 160 °C, seguindo um desenho experimental fatorial  $3^2$  com duas repetições; utilizando uma extrusora Brabender de parafuso único de taxa de compressão de 5:1, matriz de 3mm de diâmetro, 14,3 mm de comprimento; velocidade do parafuso de 150 rpm e 17 rpm de velocidade de alimentação. Foram analisados índice de expansão seccional, longitudinal, volumétrica e índice de absorção de água. Logo as amostras cruas e processadas forma submetidas a análises de microscopia ótica, MEV e eletroforese. Os resultados mostraram que a umidade teve maior impacto sobre as propriedades físicas e macroestruturais dos expandidos de *grits*. Sendo que a 15%, apresentaram maiores valores de expansão. Com relação à absorção de água foi maior a 18% e 120 °C de temperatura. Foi observado nos resultados de MEV e eletroforese que houve diminuição do tamanho/peso do componente proteico. Desta forma o trabalho conclui que menores umidade de processamento (> 15%) e altas temperaturas < 160°C provocam maiores taxas de cisalhamento e esforço mecânico transformando profundamente o complexo amido-proteína. No capítulo 3, o objetivo foi avaliar os efeitos da umidade de entrada (13 – 17%, base úmida) e da temperatura do barril (120 – 160 °C) nas propriedades físico-químicas e mudanças no perfil de carotenoides de expandidos extrudados de *grits* de milho. Os extrudados foram elaborados numa extrusora monorosca, segundo planejamento fatorial  $3^2$  com duas repetições. Os coeficientes lineares de umidade da alimentação e temperatura do barril afetaram principalmente as propriedades físico-químicas. Por outro lado, o coeficiente de interação  $\beta_{112}$  predominou as mudanças nos carotenoides totais, luteína, zeaxantina e  $\beta$ -caroteno. Os coeficientes quadráticos também foram importantes para mudanças na cor total (em relação à umidade de entrada) e para  $\beta$ -criptoxantina, energia mecânica específica e índice de expansão volumétrica (em relação à temperatura do barril). A  $\beta$ -criptoxantina e o  $\beta$ -caroteno aumentaram, enquanto a luteína e a zeaxantina diminuíram. Os modelos matemáticos desenvolvidos a partir das respostas revelaram duas regiões de operação viáveis no domínio explorado. Para um processo satisfatório, do ponto de vista tecnológico e nutricional, sugere-se a extrusão nas condições operacionais que variam entre 13,2 – 13,7% de umidade de entrada e 120 – 132 °C na temperatura do barril. Nessas condições, a entrada de energia mecânica específica necessária foi de 410 – 450 kJ/kg e extrudados com crocância com um índice de expansão volumétrica maior que 12, um trabalho de mecânico menor que 0,4 N.mm observando-se incrementos

moderados nos níveis de  $\beta$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina. O uso de cultivares mais ricas em carotenoides pode contribuir para a produção de *snacks* mais saudáveis.

**Palavras-chave:** eletroforese, microscopia eletrônica de varredura, carotenoides, energia mecânica específica, propriedades físicas, textura instrumental.



## GENERAL ABSTRACT

ROMERO RODRÍGUEZ, José Arturo. **Effect of thermoplastic extrusion parameters on the microstructure and physical properties of corn grits**. 2021. 108 p. Thesis (Doctorate in Food Science and Technology). Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

This work aimed to study the different changes that may occur with the extrusion process such as the structural part of the processed material, the effects on the protein part through the study in electrophoresis and even with carotenoids by chromatography, as well as the physical properties expansion as a function of changing parameters such as humidity and processing temperature. In chapter 1, a brief review related to the theme of the Thesis is presented, in which topics of the extrusion process are addressed, such as physical and chemical phenomena due to changes in thermomechanical treatment, characteristics of determinations by electrophoresis in the observations obtained in the band's protein. Aspects related to observations by optical microscopy and barred electron microscopy, among other aspects. In chapter 2, the objective was to verify the effect of humidity and temperature on the microstructure of expanded corn grits. Normal corn grits were processed at 15, 18 and 21% moisture at temperatures ranging from 120, 140 and 160 °C, following a 3<sup>2</sup> factorial experimental design; using a 5:1 compression ratio single screw Brabender extruder, die 3mm diameter, 14.3 mm length; 150 rpm screw speed and 17 rpm feed speed. Sectional, longitudinal, volumetric expansion index and water absorption index were analyzed. Then the raw and processed samples were submitted to optical microscopy and scanning electron microscopy and electrophoresis analyses. The results showed that moisture had a greater impact on the physical and microstructural properties of grits expanded. At 15%, they had higher expansion values. Regarding water absorption, it was higher at 18% and 120 °C of temperature. It was observed in the SEM and electrophoresis results that there was a decrease in the size/weight of the protein component. Thus, the work concludes that lower processing humidity (> 15%) and high temperatures < 160 °C cause higher shear rates and mechanical effort, deeply transforming the starch-protein complex. In chapter 3, the objective was to evaluate the effects of inlet moisture (13 – 17%) and barrel temperature (120 – 160 °C) on the physicochemical properties and changes in the carotenoid profile of extruded grits puffs. of corn. The extrudates were prepared in a single-thread extruder, according to a 3<sup>2</sup> factorial design with two replications. The linear coefficients of feed moisture and barrel temperature mainly affected the physicochemical properties. On the other hand, the  $\beta_{112}$  interaction coefficient predominated changes in total carotenoids, lutein, zeaxanthin and  $\beta$ -carotene. The quadratic coefficients were also important for changes in total color (in relation to inlet moisture) and for  $\beta$ -cryptoxanthin, specific mechanical energy and volumetric expansion index (in relation to barrel temperature).  $\beta$ -cryptoxanthin and  $\beta$ -carotene increased, while lutein and zeaxanthin decreased. The mathematical models developed from the answers revealed two viable operating regions in the explored domain. For a satisfactory process, from a technological and nutritional point of view, extrusion under operating conditions ranging from 13.2 – 13.7% of inlet moisture to 120 – 132 °C at barrel temperature is suggested. Under these conditions, the required specific mechanical energy input was 410 – 450 kJ/kg and crunchy extruded with a volumetric expansion index greater than 12, a mechanic work less than 0.4 N.mm, observing moderate increments in the  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin levels. The use of cultivars richer in carotenoids can contribute to the production of healthier snacks.

**Keywords:** electrophoresis, scanning electron microscopy, carotenoids, specific mechanical energy, physical properties, instrumental texture.

## LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	Pág.
<b>Figura 1.1.</b> Esquema de uma extrusora de parafuso único. (A) motor, (B) acoplador, (C) caixa de transmissão, (D) acoplamento do(s) parafuso(s); No barril: (E) parafuso(s) da extrusora, (F) primeira zona de aquecimento/refrigeração, (G) segunda zona de aquecimento/refrigeração; (H) matriz circular; (I) sistema de alimentação e parafuso alimentador.....	8
<b>Figura 1.2.</b> Principais partes da composição estrutural do grão de milho.....	9
<b>Figura 1.3.</b> Estrutura interna dos grânulos de amido que consiste em matrizes de amilose e cadeias de amilopectina que se formam a partir de um hilo central.....	11
<b>Figura 1.4.</b> Monômeros e microestrutura de amido, proteínas e exemplos de termoplásticos sintéticos.....	14
<b>Figura 1.5.</b> Inter-relação mecanicista entre variáveis independentes, condição de extrusão, propriedades do material e estrutura no processamento de extrusão.....	15
<b>Figura 1.6.</b> Micrografias eletrônicas de varredura de amido de milho extrudado (seção transversal). As condições de extrusão são apresentadas em termos de temperatura, umidade e velocidade do parafuso com as características estruturais indicadas como cavidades de ar (ac), lóbulo de ar (al) e estruturas endurecidas (hs).....	22
<b>Figura 1.7.</b> Micrografias eletrônicas de varredura da fração de fubá de milho cru 180: (a) ampliação de 250x e (b) ampliação de 2500x.....	26
<b>Figura 1.8.</b> SDS-PAGE dos picos de proteína 1 e 2 obtidos por exclusão de tamanho cromatografia de amostras de farinha de milho não cozida e cozida. Pistas 1 – 5 são amostras não reduzidas; as pistas 6 – 9 são amostras reduzidas. Pistas: 1, milho controle de farinha; 2, pico 1 de crus; 3, pico 2 de crus; 4, pico 1 de cozinhou; 5, pico 2 de cozido; 6, pico 1 de crus; 7, pico 2 de milho cru; 8, pico 1 de milho cozido; 9, pico 2 de amostras de farinha de milho cozida.....	27
<b>Figura 1.9.</b> SDS-PAGE unidimensional de zeínas totais de milho. (b) Estruturas esquemáticas do Mr 19000 (Z19) e Mr 22000 (Z22) uma -zeínas de milho.....	28
CAPÍTULO II	Pág.
<b>Figura 2.1.</b> Imagens estereoscópica da morfologia de dois tipos de grãos de milho dentado (A) e duro (Flint) (B), mostrando as superfícies após o corte longitudinal (pela metade), utilizados no processamento de <i>grits</i> . Grão de milho dentado (a1) 8.7x onde podem ser observados os principais tecidos: endospermas vítreo e farináceo, germe composto por: plúmula, escutelo, pericarpo e pedicelo. A imagem (a2) corresponde à ampliação indicada no círculo da Figura (a1), permite visualizar tecidos de milho a 100x de amplitude. Milho duro (b1) (Flint) 8.0x	

indicando as partes vítreas e farináceas e (b2) mostra o endosperma vítreo observado no círculo de (b1) a 100x..... 49

**Figura 2.2.** Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de *grits* de milho maduro cru: (a) imagem panorâmica de diferentes frações de endosperma vítreo (EV), endosperma farináceo (EF) e partícula em possível célula de EV em processo de transformação por calor (PTC) 400 x; (b) imagem ampliada 400 x células da parte do (EV) da imagem (a) e possíveis anéis de crescimento indicando com flechas 400 x; (c) fração de célula de amilácea que contém grânulos de amido e fraturas, 2 kv; (d) célula de amido em processo de desintegração onde pode-se apreciar fratura indicada pela flecha, grânulos de amido compactos, corpos proteicos arredondados e cor branco. Mesmo assim, vestígios de superfície convexa pela perda de corpos proteicos de zeína 2 kv; (e) Resto de célula de (EV) em forma de cadeira, com grânulos de amido compactos, vestígios de anéis de crescimento e canais, 500 x e (f) possível corpo proteico 30kv..... 50

**Figura 2.3.** Gráficos de superfície de resposta para as variáveis de extrusão: a) vazão de extrusão (Vazão, kg/h) e b) energia mecânica específica (EME, kJ/kg); para as propriedades de hidratação: c) índice de absorção de água (IAA, g água/g)..... 53

**Figura 2.4.** Gráficos de superfície de resposta para as propriedades de expansão: a) densidade aparente (DA, kg/m<sup>3</sup>), b) índice de expansão seccional (IES), c) índice de expansão longitudinal (IEL), d) índice de expansão volumétrica (IEV)..... 54

**Figura 2.5.** Imagem microscópica de luz de superfícies horizontal e longitudinal de extrudados de *grits* de milho (300 µm) e diâmetros correspondentes. Extrudados com parafuso número 5, velocidade do parafuso e alimentador de 150 e 17 rpm, respectivamente, matriz de diâmetro 3 mm e comprimento de 14,3 mm) em diferentes temperaturas do cilindro e níveis de umidade de extrusão (UE)..... 55

**Figura 2.6.** Micrografia de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de *grits* de milho (300 µm) extrudado e moído (800 µm) umidade 7%. Velocidades dos parafusos da extrusora e alimentador 150 e 17(rpm), respectivamente, Parafuso número 5, matriz (Ø 3 mm e comprimento 14,3 mm); temperatura do barril 120 (TB °C) e diferentes níveis de umidade de entrada (UE%): (a) 100x, (b) 600x, (c) 1,5 kv (Chen et al., 2011) e (d) 2,0 kv; (e) 100x, (f) 200x, (g) 1,0 kv e (h) 2,0 kv e; (i) 100x, (j) 600x, (k) 2,0 kv; e, (l) 2,0 kv. Abreviações: Ø = Diâmetro; x = Ampliação; Kv=Quilo voltio. Anéis de crescimento..... 57

**Figura 2.7.** Micrografia MEV de *grits* de milho (300 µm) extrudado e moído (800 µm) umidade 7%. Velocidades dos parafusos da extrusora e alimentador 150 e 17 rpm, respectivamente, Parafuso número 5, matriz Ø 3 mm e comprimento 14,3 mm); temperatura do barril 140 (TB °C) e diferentes níveis de umidade de entrada (UE%): (a) 100x, (b) 600x, (c) 1,5 kv; e (d) 2,0 kv; (e) 100x, (f) 200x, (g) 1,0 kv e (h) 2,0 kv; e; (i) 100x, (j) 600x, (l) 2,0 kv; e (l) 2,0 kv. Abreviações: Ø = Diâmetro; x = Ampliação; Kv=Quilo voltio..... 58

**Figura 2.8.** Caracterização por eletroforese de amostras de *grits* de milho crua processadas por extrusão. PB, Padrão de proteína de baixa massa molecular gel de SDS-poliacrilamida (kDa) Amostras: *grits* de milho normal (300 µm) e farinha de expandidos (800 µm); corados com azul brilhante de Coomassie: (A) para proteína e (B) ácido periódico-fucsina para carboidratos. A linha indica a posição do limite entre os géis de empilhamento (superior) e separadores

(inferior) (A). PB, padrão de baixa massa molécula (kDa) fabricante de tamanho molecular contendo fosforilase-b (101,36 kDa), albumina de soro bovino (72,89 kDa), ovalbumina (47,82 kDa), anidrase carbônica (33,98 kDa), inibidor de tripsina de soja (26,84 kDa) e lisozima (17,62 kDa). Parâmetros de extrusão: velocidade do parafuso do equipamento e velocidade de alimentação 150 e 17 rpm respectivamente. Parafuso número 5, matriz ( $\phi$  3 mm e comprimento 14,3 mm; a) linhas 1, 2 e 3 extrudados a 120 °C e 15, 18 e 21% de umidade de entrada (UE), respectivamente, e GM, *grits* de milho cru. b) linhas 1, 2 e 3 extrudados a 140°C e 15, 18 e 21% de umidade de entrada (UE), respectivamente; e, GM, *grits* de milho cru. c) linhas 1, 2 y 3 extrudados a 160 °C e 15, 18 e 21% de umidade de entrada (UE), respectivamente, e GM, *grits* de milho cru. .... 60

### CAPÍTULO III

Pág.

**Figure 3.1.** Response surface plots for physicochemical properties: a) specific mechanical energy (*SME*, kJ/kg); b) total color change ( $\Delta E$ ); c) volumetric expansion index (*VEI*); d) crispness work (*Wc*, N·mm). .... 72

**Figure 3.2.** Sectional and longitudinal (internal and external) scanned images of maize grits expanded extrudates at variable feed moistures and barrel temperatures. Scale in mm, at the edge of each image. .... 73

**Figure 3.3.** Response surface plots for changes in carotenoid content ( $\mu\text{g}/100 \text{ g, db}$ ): a) lutein (*LUT*); b) zeaxanthin (*ZEA*); c)  $\beta$ -cryptoxanthin ( $\beta\text{CR}$ ); d)  $\beta$ -carotene ( $\beta\text{CA}$ ). .... 75

**Figure 3.4.** Region of the optimum found by overlaying response surfaces: changes in total carotenoids (*TCA*,  $\mu\text{g}/100 \text{ g, db}$  —); volumetric expansion index (*VEI*, .....); crispness work (*Wc*, N.mm —); Specific mechanical energy (*SME*, kJ/kg ---). .... 77

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Pág.

<b>Tabela 1.1.</b> Aplicações da extrusão termoplástica com ou sem texturização.....	6
<b>Tabela 1.2.</b> Principais produtos fatíveis de elaboração pelo processo de extrusão termoplástica. .....	7
<b>Tabela 1.3.</b> Perdas típicas de diferentes vitaminas durante o peletizado e extrusão. ....	20
<b>Tabela 1.4.</b> Distribuição granulométrica para <i>Snackmix</i> 200, 300 e 400 (Milhão Alimentos). .....	25

### CAPÍTULO II

Pág.

<b>Tabela 2.1.</b> Composição centesimal de <i>grits</i> de milho antes e depois do processamento por extrusão.....	48
<b>Tabela 2.2.</b> Planejamento experimental e respostas do efeito das variáveis de extrusão sobre as propriedades físicas de extrusados de <i>grits</i> de milho. ....	51
<b>Tabela 2.3.</b> Coeficientes de regressão (em níveis codificados) dos modelos ajustados para propriedades físicas de extrusados de <i>grits</i> de milho usando variáveis independentes: umidade de extrusão ( <i>UE</i> ), e temperatura do barril ( <i>TB</i> ). ....	52

### CAPÍTULO III

Pág.

<b>Table 3.1.</b> Experimental design and responses for physicochemical properties and changes in carotenoid content of maize grits extrudates. ....	70
<b>Table 3.2.</b> Regression coefficients (in coded levels) of adjusted models for physical properties and carotenoid changes of maize grits extrudates using independent variables: feed moisture ( <i>FM</i> ), and barrel temperature ( <i>BT</i> ).....	71

## LISTA DE ABREVIATURAS

<i>BT</i>	Barrel temperature
$\beta CA$	$\beta$ -carotene
$\beta CR$	$\beta$ -cryptoxanthin
<i>db</i>	dry basis
$W_c$	Crispness work
<i>FM</i>	Feed moisture
<i>LUT</i>	Lutein
<i>SME</i>	Specific mechanical energy
<i>TCA</i>	Total carotenoids content
$\Delta E$	Total color change
<i>VEI</i>	Volumetric expansion index
<i>wb</i>	wet basis
<i>ZEA</i>	Zeaxanthin

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	1
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>2</b>
EXTRUSION-COOKING OF CORN GRITS: A REVIEW .....	2
ABSTRACT .....	3
RESUMO .....	4
1.1 REVISÃO DE LITERATURA .....	5
1.1.1 Aspectos relacionados com a tecnologia de extrusão.....	5
1.1.2 Morfologia do grão de milho.....	9
1.1.3 Endosperma .....	10
1.1.4 Amido .....	10
1.1.5 Proteínas .....	12
1.1.6 Lipídeos .....	16
1.1.7 Fibra.....	16
1.1.8 Carotenoides .....	18
1.1.9 Microestrutura de produtos expandidos extrudados de <i>grits</i> de milho.....	21
1.1.10 Aspectos relacionados aos parâmetros de extrusão, matéria prima e seus efeitos nos extrudados.....	24
1.1.11 Utilização da eletroforese na identificação e modificação das zeínas de <i>grits</i> de milho e extrudado .....	26
1.2 CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	31
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>38</b>
EFFECT OF MOISTURE AND TEMPERATURE ON THE MICROSTRUCTURE OF CORN GRITS EXPANDED .....	38
ABSTRACT .....	39
RESUMO .....	40
2.1 INTRODUÇÃO.....	41
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
2.2.1 Matéria prima e composição proximal .....	42
2.2.2 Processo de extrusão.....	42
2.2.3 Determinação do fluxo de massa de extrusão .....	43
2.2.4 Energia mecânica específica ( <i>EME</i> ).....	43
2.2.5 Índice de absorção em água ( <i>IAA</i> ).....	43
2.2.6 Densidade aparente e propriedades de expansão.....	44

2.2.7 Características microestruturais.....	45
2.2.8 Utilização da eletroforese na identificação e modificação das zeínas de <i>grits</i> de milho e extrudado .....	45
2.2.9 Planejamento experimental e análise estatística.....	47
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
2.3.1 Material de alimentação e composição centesimal.....	48
2.3.2 Morfologia do grão de milho.....	48
2.3.3 Microestrutura de <i>grits</i> de milho cru .....	50
2.3.4 Planejamento experimental e respostas das variáveis .....	51
2.3.5 Micrografia Estereoscópicas de extrudados de <i>grits</i> de milho.....	55
2.3.6. Microscopia eletrônica de varredura de extrudados de <i>grits</i> de milho.....	56
2.3.7 Eletroforese de <i>grits</i> e <i>snacks</i> expandidos de milho.....	58
2.4 CONCLUSÃO.....	61
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>65</b>
PHYSICAL CHARACTERIZATION OF MAIZE GRITS EXPANDED SNACKS AND CHANGES IN THE CAROTENOID PROFILE .....	65
ABSTRACT .....	66
3.1 INTRODUCTION.....	67
3.2 MATERIAL AND METHODS.....	68
3.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	69
3.3.1 Composition and Granulometry of the Feed Material.....	69
3.3.2 Physicochemical properties .....	69
3.3.3 Total carotenoids and carotenoid profile .....	74
3.3.4 Optimization .....	76
3.4 CONCLUSION .....	78
ACKNOWLEDGEMENTS .....	78
REFERENCES .....	79
CONCLUSION GERAL .....	82
ANEXOS .....	83



## INTRODUÇÃO GERAL

A tecnologia de extrusão-cocção de alimentos foi desenvolvida na década de 1930, do século 20 aplicando os princípios tecnológicos da ciência dos polímeros, que utilizam polímeros inorgânicos, com composição e estrutura homogêneas, enquanto os polímeros biológicos (carboidratos, proteínas e lipídios) e suas misturas são utilizados nos alimentos, tornando-se um processo tecnológico mais complexo, cujos produtos se caracterizam por a aparência, textura, cor, propriedades funcionais, aceitabilidade e valor nutricional. Estes produtos têm se caracterizado por suas propriedades funcionais, como textura, índice de absorção de água, índice de solubilidade em água, taxa de expansão, densidade aparente e viscosidade de massa, entre outras propriedades.

O cozimento por extrusão dos alimentos é um processo que combina em simultâneo altas temperaturas, alta pressão e cisalhamento, com o qual se produz uma grande variedade de produtos para consumo massivo entre eles, *snacks*, farinhas pré-cozidas, cereais matinais, massas pré-cozidas, e ingredientes alimentares, ração animal, entre outros. O equipamento utilizado no processo, é uma extrusora, com diferentes configurações (rosca simples, rosca dupla, co-rotacional, cônica, etc.) e composto com um pré-condicionador, sistema de extrusão composto por um motor principal, alimentador de matéria prima, barril ou cilindro, parafuso ou parafusos, matriz, cortador, e aquecimento do sistema por vapor, resistência elétrica ou fluido de óleo quente. Todo o sistema, em muitos casos, é acoplado a um computador que registra todos os eventos da engenharia do sistema e permite que sejam controlados manualmente de acordo com as características físico-químicas do produto desejado. Dentre os produtos mais populares disponíveis nos supermercados, derivados deste processo são os cereais matinais e *snacks* elaborados de *grits* de milho.

O objetivo geral deste trabalho foi estudar as mudanças físico-químicas que possam ocorrer com a extrusão termoplástica em *grits* de milho, tais como, propriedades físicas, estrutura do produto, qualidade proteica por eletroforese e mudanças nos carotenoides por cromatografia em função dos parâmetros de umidade e temperatura do processo.

# **CAPÍTULO I**

**EXTRUSÃO-COCÇÃO DE *GRITS* MILHO: UMA REVISÃO**

**EXTRUSION-COOKING OF CORN GRITS: A REVIEW**

## Extrusion-cooking of corn grits: a review

José Arturo Romero Rodríguez <sup>1</sup>, José Luis Ramírez Ascheri <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, km 7, Seropédica, RJ CEP 23890-000, Brazil

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Food Extrusion and Physical Properties Lab, Avenida das Américas 29501, Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ CEP 23020-470, Brazil

### ABSTRACT

Corn grits is a raw material widely used in the preparation of expanded products made by extrusion. Currently, there is a wide variety of products available derived from corn grits and other derived ingredients, such as *canjica* cornmeal, corn cream, *fubá* among others used in the general food industry. Snacks constitute a large volume of production that are currently on supermarket shelves. Due to the expansion properties of corn grits particles during the extrusion process, the moisture and temperature parameters are the most important factors that deserve study in verifying the physical and chemical changes of corn-expanded products. It is well known that corn has carotenoids in its composition, which is one of the objectives of this review in which it deals with different aspects involving the characterization of materials processed by this technique and their respective changes. Several studies were made available regarding this topic in which we put the main ones that are considered to apply to our work proposal.

**Keywords:** processing, morphological characteristics, grits, microstructure, carotenoids, electrophoresis.

## RESUMO

*Grits* de milho é uma matéria prima muito utilizada na elaboração de produtos expandidos elaborados por extrusão. Na atualidade há uma grande variedade de produtos disponíveis originários do milho e outros ingredientes derivados, como *grits*, canjica, fubá, creme de milho entre outros utilizados na indústria alimentaria em geral. Os *snacks* constituem um grande volume da produção que constam na atualidade nas prateleiras dos supermercados. Pelas propriedades de expansão que possuem as partículas de *grits* de milho durante o processo de extrusão, os parâmetros de umidade e temperatura são os fatores mais importantes que merecem estudo na verificação das mudanças físicas e químicas dos expandidos de milho. É bastante conhecido que o milho possui na sua composição carotenoides, sendo um dos objetivos desta revisão na qual trata de diferentes aspectos que envolvem a caracterização dos materiais processados por esta técnica e suas respectivas mudanças por efeitos do processamento térmico. Diversos estudos foram disponibilizados referente a este tema na qual colocamos os principais que se considera que aplicam a nossa proposta de trabalho.

**Palavras-chave:** processamento, características morfológicas, *grits*, microestrutura, carotenoides, eletroforese.

## 1.1 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1.1 Aspectos relacionados com a tecnologia de extrusão

A extrusão-cocção de alimentos é um processo de alta temperatura, alta pressão e cisalhamento, com o qual se produz uma grande variedade de produtos para consumo direto em massa, massas pré-cozidas e aditivos alimentares, ração animal, entre outros (**Tabela 1.1**).

O cozimento por extrusão não é uma operação de unidade única (**Tabela 1.2**). Sua especificidade é de ampla gama de aplicações, em comparação com outros processos térmicos ou HTST (*High Temperature Short Time*), que dependem (1) do número de etapas de processamento mecânico e térmico que podem ocorrer ao longo do(s) parafuso(s) e cilindro e (2) alto cisalhamento e pressão exercida sobre misturas de alimentos com baixa umidade. A geometria da extrusora, as condições do processo e a composição da mistura de alimentos interagem para gerar várias modificações físicas, químicas e nutricionais dos constituintes dos alimentos (HARPER, 1981; RIAZ, 2009; CAMIRE, 1991). As novas extrusoras de barril longo são equipadas com várias entradas para líquidos e sólidos, e com segmentos de rosca modulares sucessivos, permitindo controle independente de temperatura, pressão, cisalhamento e tempo de residência. As transformações sequenciais são, portanto, possíveis. Embora as mudanças nutricionais sejam de pouca importância em alguns alimentos extrudados, a prevenção ou redução da destruição de nutrientes, junto com as melhorias na digestibilidade do amido ou da proteína, são claramente importantes na maioria das outras aplicações (AREAS, 1992). A extrusão também permite a inativação de vários fatores antinutricionais ou tóxicos, de enzimas oxidativas (lipoxigenase, peroxidase) e outras enzimas de deterioração. O maior grau de preocupação nutricional é alcançado quando a extrusão é usada especificamente para produzir alimentos nutricionalmente balanceados ou enriquecidos (alimentos para desmame, substitutos de carne, rações para animais, alimentos dietéticos) (**Tabela 1.2**). Pesquisas detalhadas dos efeitos nutricionais do cozimento por extrusão foram publicadas recentemente (RIAZ, 2009).

**Tabela 1.1.** Aplicações da extrusão termoplástica com ou sem texturização.

<b>Nível</b>	<b>Modificações nutricionais</b>	<b>Evitar a destruição de Nutrientes: Aumentar a digestibilidade de amido</b>	<b>Destruição de compostos antinutricionais ou fatores tóxicos</b>	<b>Elaborar alimentos nutricionalmente enriquecidos ou balanceados</b>
Industrial	Farinhas, amidos pré-cozidos, descristalização anidra de açúcar para confeitaria (balas duras), cobertura de chocolate, pré-tratamento de malte para bebidas, estabilização de farelo de arroz, elaboração de gel de gelatina, licores e gomas de mascar.	<i>Snacks</i> de milho e batata, coextrudados recheios, pão torrado, pão chato crocante, biscoitos em geral e tipo crackers, cereais matinais, farinhas pré-gelatinizadas, farinha instantânea para tortilhas e bebidas, pudim instantâneo de arroz e transformação da caseína em caseinato.	Farelos de sementes, farinha pré-cozida de soja, inclui soja integral (para enriquecimento de pães, massas).	Ração para animais (bovinos, ração para animais domésticos e peixes de aquário). Alimentos instantâneos não convencionais, mingaus de cereais ou misturas com leguminosas. Texturización de proteínas vegetales (análogos de carne) Alimentos dietéticos (alimentos sem glúten, farelos fortificados).
Desenvolvimento	Degerminação de especiarias, encapsulação, geração de agentes de sabor, liquidificação enzimática de amido por fermentação em etanol.	Massas de rápido preparo, pré-tratamento de oleaginosas para extração de óleo, preparação de massas específicas (para armazenamento por congelamento, sem retrogradação durante esfriamento).	Destruição de aflatoxinas ou gossipol nas sementes de algodão, e amendoim. Esterilização de farinha de sangue.	Gelatinização de proteína vegetal (alta umidade), reestruturação de carne picada ou carne desossada mecanicamente (alta umidade), preparação de novos processos estéreis de queijos (alta umidade, alto teor e gordura) e para bebês (alta umidade).

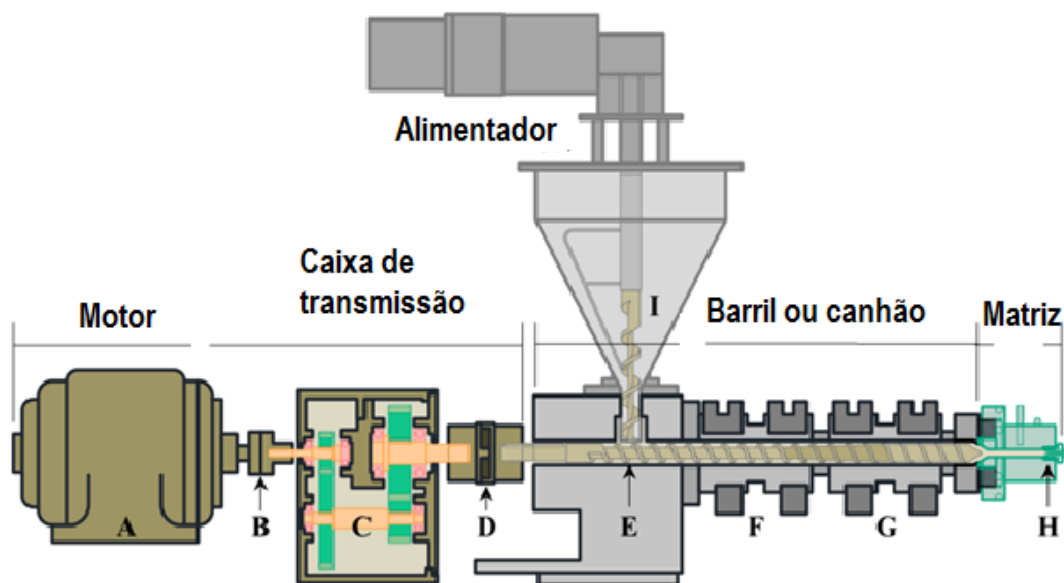
Fonte: RIAZ (2009).

**Tabela 1.2.** Principais produtos fatíveis de elaboração pelo processo de extrusão termoplástica.

<b>Para consumo humano</b>	
Pão ralado (farinha de rosca). Encapsulamento de sabor.	Degerminação de especiarias.
Decristalização anidra de açúcares para fazer doces.	Liquefação enzimática de amido para fermentação em etanol.
Concha de chocolate para massas de cozimento rápido.	Tratamento de sementes oleaginosas para posterior extração de óleo.
Malte e amido pré-tratados para fermentação.	Confeitaria de gel de gelatina.
Estabilização do farelo de arroz.	Gelificação de proteínas vegetais.
Preparação de massas pré-cozidas.	Preparação de alimentos esterilizados para bebês (Mingaus e papinhas).
Destruição de parcial aflatoxinas no farelo de amendoim ou gossipol no farelo de algodão.	Eliminação do inibidor de tripsina da soja no uso de rações.
Caramelos, alcaçuz, goma de mascar	Produção de texturizados de pulses.
Petiscos de milho, arroz, sorgo e batata, etc.	Farinhas pré-cozidas de cereais, pseudocereais, grãos em geral e tuberosas.
<i>Snacks</i> coextrudados com recheios internos.	Pão estaladiço, biscoitos, bolachas.
Reestruturação da carne picada.	Modificação de amidos por extrusão reativa.
Pudins de arroz instantâneo.	
<b>Para consumo animal</b>	
Rações para <i>pet food</i> (cães, gatos, etc.).	Rações para pecuária (aves, suínos, gado de leite e corte, caprinos, ovinos, etc.)
Rações para aquicultura	Rações para cavalos.
<b>Para uso industrial</b>	
Amidos pré-gelatinizados para indústria têxtil.	Amidos pré-gelatinizados para indústria de mineração.
Amidos pré-gelatinizados para indústria de extração de petróleo.	Fabricação Materiais bioplásticos para e embalagens utensílios (talheres feitos de materiais amiláceos).
Fabricação de papel moeda.	Fabricação de material de embalagem biodegradável (substituição do isopor).

Adaptado de DOBRASZCZYK et al. (2006).

O equipamento utilizado é uma extrusora, com diferentes configurações (rosca simples, rosca dupla, co-rotacional, cônica, etc.). Composto por um barril ou cilindro, um parafuso, uma matriz, um cortador, um funil de alimentação, um motor e aquecimento do sistema por vapor ou energia. Todo o sistema é acoplado a um computador que registra todos os eventos de engenharia do sistema e permite que sejam controlados manualmente de acordo com as características físico-químicas do produto desejado (**Figura 1.1**).



**Figura 1.1.** Esquema de uma extrusora de parafuso único. (A) motor, (B) acoplador, (C) caixa de transmissão, (D) acoplamento do(s) parafuso(s); No barril: (E) parafuso(s) da extrusora, (F) primeira zona de aquecimento/refrigeração, (G) segunda zona de aquecimento/refrigeração; (H) matriz circular; (I) sistema de alimentação e parafuso alimentador. Fonte: VARGAS-SOLÓRZANO (2019).

O processo de extrusão é amplamente utilizado na indústria de alimentos expandidos à base de amido ou produtos amiláceos. A crocância constitui um atributo de qualidade e está fortemente relacionado à expansão e microestrutura, que por sua vez é determinada pelos parâmetros usados na extrusão (OWUSU-ANSAH; VAN DE VOORT; STANLEY, 1984).

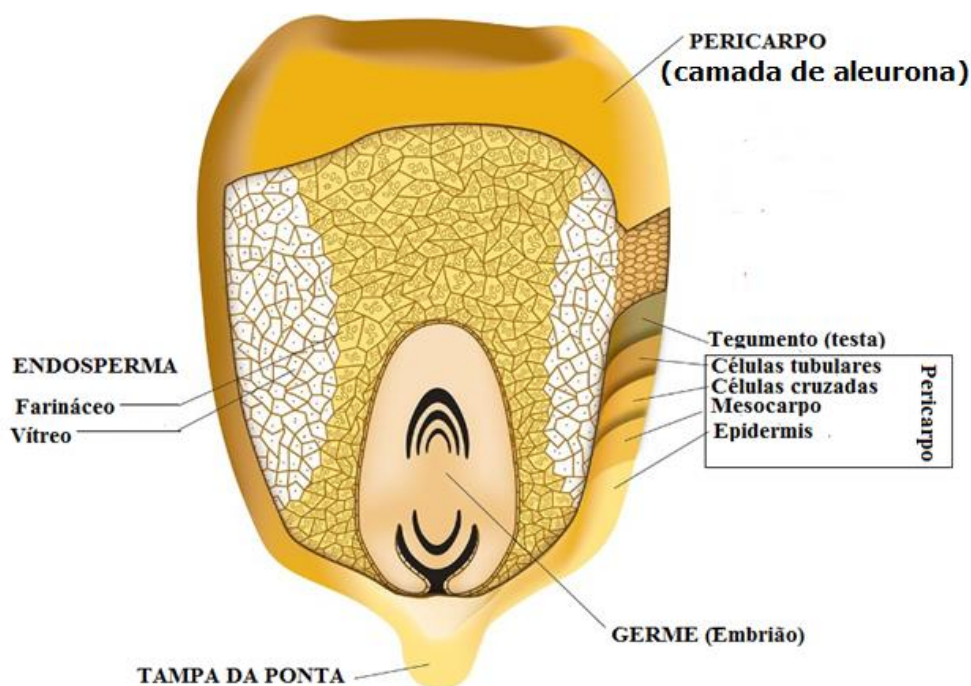
A extrusão de alimentos amiláceos resulta na gelatinização, destruição parcial ou completa da estrutura cristalina e fragmentação molecular dos polímeros de amido. Durante a extrusão, as estruturas das proteínas são rompidas e alteradas sob alto cisalhamento, pressão e temperatura. A solubilidade da proteína diminui e as reações de reticulação ocorrem possivelmente devido a algumas ligações covalentes formadas em alta temperatura, bem como a desnaturação da proteína e a formação de complexos entre amido e lipídios e entre proteína e lipídios (COLONNA et al., 1983; PÉREZ; BERTOFT, 2010). A formulação do material e os parâmetros do processo de extrusão afetam expansão, formação da nucleação celular e microestrutura resultante, que, por sua vez, controlam as propriedades mecânicas.

Micro tomografia de raios X não invasiva (XMT), em combinação com testes mecânicos realizados permitem compreender as relações complexas que ocorrem durante a fusão do amido na extrusão. O estudo de AGBISIT (2007), forneceu uma visão significativa do mecanismo de deformação das bolhas de ar de amido de milho extrudadas mostrando a microestrutura, incluindo diâmetro médio da célula (2,07 – 6,32 mm), espessura da parede (0,13 – 0,25 mm) e densidade numérica (18 – 146 cm<sup>3</sup>). Nesse estudo, a microestrutura teve correlações moderadas a altas, típico de processo na qual há o envolvimento de diversos parâmetros que impactam no produto processado.



### 1.1.2 Morfologia do grão de milho

O milho (*Zea mays* L.) é de grande importância na nutrição humana e animal, consumido nas Américas desde os tempos pré-incas, maias, astecas e na atualidade aplicações industriais diversas, pela disponibilidade de diferentes genótipos principalmente devido à estrutura do grão, como milho pipoca, milho doce, milho duro, semiduro, milho ceroso, glutinosos, etc. Na **Figura 1.2**, podem ser visualizadas as principais partes do grão de milho, indicando o pericarpo, endosperma amiláceo, as partes do endosperma vítreo, responsável da dureza dos grãos de milho, e também a parte farinácea, que corresponde à uma estrutura menos dura do grão (POMERANZ, 1987).



**Figura 1.2.** Principais partes da composição estrutural do grão de milho. Fonte: POMERANZ, (1987).

Segundo XU et al. (2019), o endosperma é o componente predominante do grão de milho e geralmente é classificado em endosperma farinhento (mole, opaco ou farináceo) e endosperma vítreo (córnea, dura, pederneira, translúcida ou vítreo). O endosperma farináceo é caracterizado por esféricos grânulos de amido e matriz de proteína fina, e o endosperma vítreo tem grânulos de amido poligonais compactados e matriz de proteína espessa. Durante a secagem do grão, os fios finos provocam ruptura da matriz proteica, causando bolsas de ar, o que dá ao endosperma farináceo uma aparência de cor branco opaco; no entanto, a matriz de proteína espessa encolhe, mas não provoca ruptura, causando uma estrutura vítrea densa, que dá origem ao endosperma vítreo uma aparência translúcida. Estas são as características que definem o uso dos grãos de milho na indústria. Existem grãos de milho com altos teores lipídicos, outros com altos teores de aminoácidos essenciais específicos, como a lisina (Milho opaco), metionina, triptofano e cisteína. Outros milhos com altos teores de amido, ideais para extração de este importante componente na indústria da maizena, outras variedades com altos teores de lipídios,

ideais na obtenção óleos. Outros, grãos possuem, altos teores de amilose (*amylomaize*), ou com altos teores de amilopectina (cerosos) (ASCHERI e GERMANI, 2004).

Na atualidade a produção de *grits* de milho, normalmente são obtidos da moagem previa degerminação de grãos duros e semiduros e mantêm seus pigmentos no endosperma córneo, esterificados em lipídios, proteínas e grânulos de amido (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDIVAR, 2019).

### 1.1.3 Endosperma

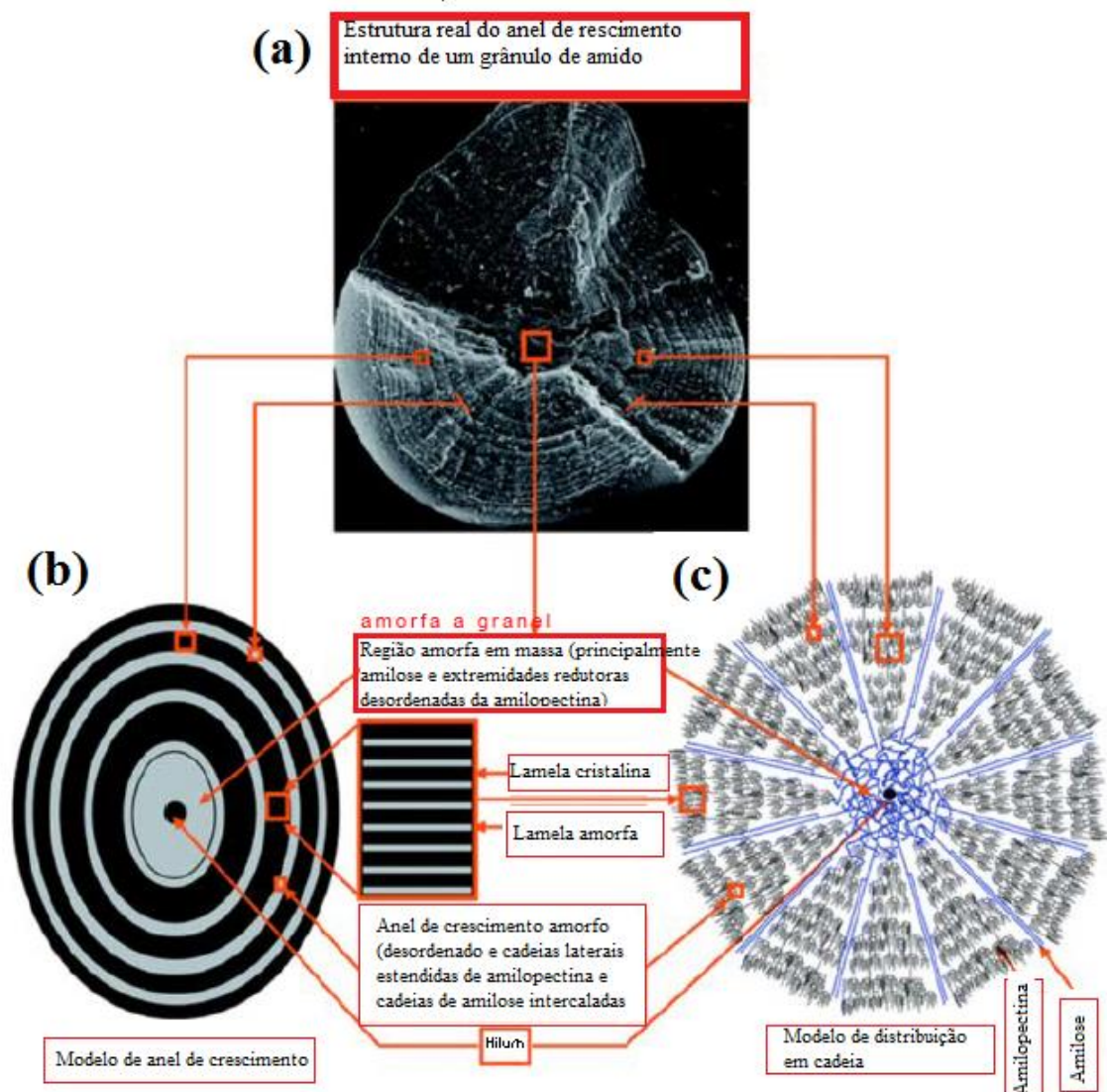
O endosperma do grão de milho maduro constitui o maior tecido de armazenamento de amido e proteína (PEREZ e BERTOFT, 2010) e influencia suas qualidades e aplicações (XU et al., 2009). É recoberto pela camada de aleurona (rica em proteínas e enzimas alfa-amilases e hidrolases), numerosas células que contêm grânulos de amido, lipídios e pigmentos carotenoides (BEMILLER; WHISTLER, 2009). Da mesma forma, irrigam a periferia do endosperma e do embrião (ROST e LERSTEIN, 1970).

Segundo ROBUTTI et al. (2002), relataram que é importante conhecer a associação entre a qualidade industrial e as propriedades comerciais através do conhecimento adequado das características biofísicas (textura e dureza do endosperma) e bioquímicas (composição proteica e do amido). Esses pesquisadores determinaram que o comportamento dos grãos de endosperma de milho duros processados por extrusão apresentou maior expansão, melhor cozimento e menor consumo de energia.

A textura dos cereais expandidos é definida principalmente pela textura dos *snacks*, que é determinada pelas condições de extrusão e pelo teor de umidade (ROBUTTI et al., 2002; GONZÁLEZ, et al. 2004). Segundo ZHANG (2011), a textura do grão de milho é importante porque influencia as características de transporte e manejo, a suscetibilidade ao bio-deterioro por insetos e fungos, rendimento de *grits* na moagem a seco e consumo de energia no processo. Estas dependem da presença e quantidade dos aminoácidos metionina e cisteína que definem as propriedades de dureza e textura do endosperma do grão de milho maduro (ROBUTTI, 2002).

### 1.1.4 Amido

O amido é sintetizado em forma de grânulos nos cloroplastos das folhas, de forma temporal e nos amiloplastos das células do endosperma de armazenagem por tempo longo (PEREZ e BERTOFT, 2010). O amido é um polímero natural, renovável e biodegradável, produzido por muitas plantas como fonte de energia armazenada. Grânulos de amido nativo normalmente têm dimensões que variam de 0,5 para 175  $\mu\text{m}$  e aparecem em uma variedade de formas (**Figura 1.3**). É composto por dois biopolímeros: amilose e amilopectina. Amilose é um composto linear e polímeros ramificados como a amilopectina composto de  $\alpha$ -D-glicose. Amilose tem uma massa molecular de cerca de  $10^5 - 10^6 \text{ g mol}^{-1}$ , enquanto a amilopectina tem uma massa molecular na faixa de  $10^7 - 10^9 \text{ g mol}^{-1}$ . A estrutura linear da amilose é mediante ligações glicosídicas ( $\alpha$ -1-4) e para a amilopectina, uma estrutura linear ramificada, de ligações ( $\alpha$ -1-4) e ( $\beta$ -1-6) conforme descrito por WANG et al., (2012).



**Figura 1.3.** Estrutura interna dos grânulos de amido que consiste em matrizes de amilose e cadeias de amilopectina que se formam a partir de um hilo central. Fonte: WANG, et al., (2012).

De acordo com XIE, HALLEY e AVEROUS (2012), relataram que devido às preocupações ambientais e à escassez de petróleo, o uso de recursos de amido em aplicações não alimentares experimentou um desenvolvimento considerável nas últimas décadas, a fim de encontrar substitutos para os plásticos à base de petróleo. O amido tem vantagens como baixo custo, ampla disponibilidade e compostabilidade total sem resíduos tóxicos, embora também exista problemas na disponibilidade de superfícies agrícolas para arranjar plantas em escala mundial. Usando técnicas de processamento convencionais, como extrusão, o amido granular nativo (também conhecido como amido bruto) pode ser convertido em um estado fundido com a presença de baixo teor de plastificantes, como água e glicerol. Como os primeiros estudos mostraram que o fundido do polímero de amido se comporta, em parte, como um polímero sintético típico, esse material é frequentemente referido como amido termoplástico (ATP) na literatura. O ATP pode ser processado em vários produtos, como folhas/filmes, espumas e outras formas específicas por extrusão, moldagem por injeção, moldagem por compressão e outros processos.

Segundo BIER (2013), informou que um agropolímero termoplástico específico de interesse aqui é o amido termoplástico (ATP). O amido pode ser convertido em um material termoplástico na presença de plastificantes usando calor e cisalhamento. O benefício do ATP é a sua compostabilidade e custo relativamente baixo em comparação com o material sintético termoplástico. Um problema com o uso do amido é sua alta temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ). A fragilidade também aumenta com o tempo devido ao volume livre, relaxamento e retrogradação. A fim de aumentar a flexibilidade e processabilidade, plastificantes como água, glicol, sorbitol, ureia, amida, açúcares e aminas quaternárias têm sido usadas em ATP. A estabilidade dimensional e propriedades mecânicas do amido termoplástico são altamente dependentes do teor de umidade. Infelizmente, a hidrofobicidade excessiva do amido não é significativamente reduzido por plastificantes de poliálcool. Em seu estado nativo, o amido é semicristalino (cerca de 20 – 45%) e insolúvel em água (PEREZ e BERTOFT, 2010).

O amido é rico em amilose é geralmente preferido para conversão em ATP conforme a linearidade da amilose melhora a processabilidade do amido, embora esteja presente como um componente secundário (entre 20 e 30% em peso). A proporção de amilose para amilopectina depende de a fonte e idade do amido, e também pode ser influenciada pelo processo de extração, (XIE, HALLEY e AVEROUS, 2012).

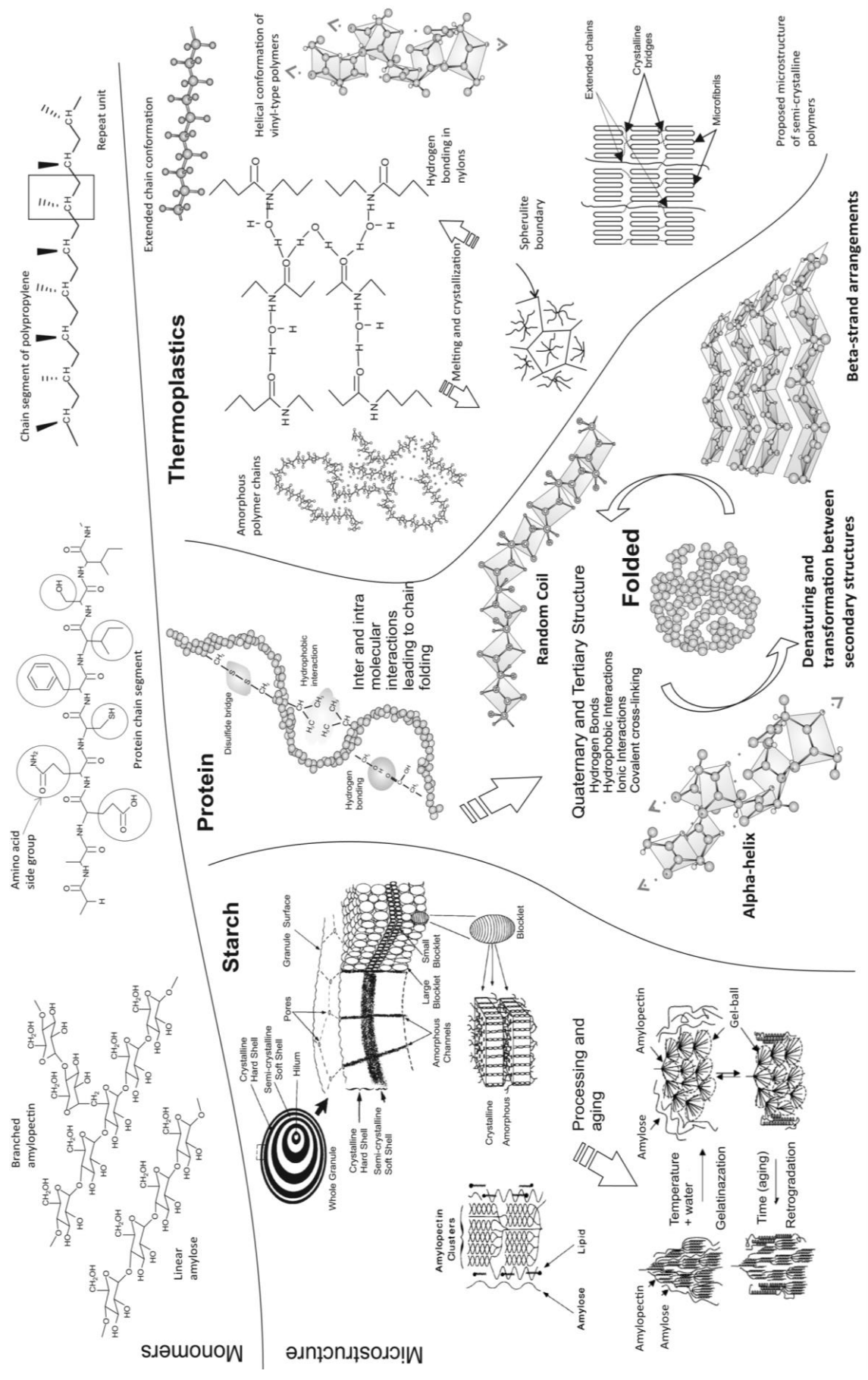
### 1.1.5 Proteínas

As proteínas de armazenamento em grãos de cereais são prolaminas e glutelinas, com efeito significativo na nutrição humana e animal, bem como em suas propriedades funcionais no processamento de alimentos (BORRAS et al., 2006; SHEWRY e HALFORD, 2002). As prolaminas do grão de milho são conhecidas como zeínas (ESEN, 1986). Elas constituem uma família de zeínas composta por  $\alpha$ -zeína,  $\beta$ -zeína,  $\gamma$ -zeína e  $\delta$ -zeína. São sintetizadas durante o desenvolvimento do endosperma pela membrana ligada aos poli-ribosomas e transportadas para o lúmen do retículo endoplasmático onde são montadas aos corpos proteicos (LENDING e LARKINS, 1989 e DUVICH, 1960). As zeínas constituem o (60 e 70%) do endosperma e são solúveis em soluções alcoólicas e solventes orgânicos (HOLDING e LARKINS, 2005). As prolaminas do grão de milho são deficientes em lisina, triptofano e uma fonte de metionina e cisteína (WANG, 2019).

A qualidade nutricional das zeínas do grão de milho normal maduro é baixa, devido à sua deficiência em lisina e triptofano e sua não digestibilidade em humanos e animais monogástricos (SHEWRY, 2007). Porém, com a descoberta do gene *opaque-2*, conseguiu-se um aumento de duas a três vezes a quantidade de lisina e uma redução das zeínas, com aumento das globulinas (proteínas de maior valor biológico). O desenvolvimento de uma mistura de farinha de soja desengordurada e farinha *opaque* (1/3 do custo de um litro de leite), processada por extrusão termoplástica, foi considerada como adequada como alimento complementar para bebês e crianças. Da mesma forma, outras matérias-primas nativas e processamento por extrusão para converter produtos de qualidade em formulações e posterior comercialização foram viabilizadas (BRESSANI, 2010), incluindo fontes proteicas, como caseína, gérmen de trigo, farelo de soja desengordurada foram adicionadas aos *snacks* à base de milho.

KAUR et al (2019), estudaram a otimização das condições de extrusão para o desenvolvimento de mingau instantâneo à base milho normal e de *Quality Protein Maize* (QPM). O efeito do teor de umidade (14 – 18%), temperatura do barril (125 – 175 °C) e velocidade do parafuso (400 – 550 rpm) nas variáveis dependentes (solubilidade de carboidratos (SC), solubilidade de proteínas (SP), poder de hidratação (PH) e capacidade de absorção no leite (CAL). A umidade de alimentação e a temperatura do barril exibiram efeitos significativos ( $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,05$ ) em SP, PH e CAL, enquanto a velocidade do parafuso mostrou um efeito não significativo ( $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,05$ ) no PH e SC. O aumento no teor de umidade e na temperatura do barril aumentaram os níveis de SC e SP do mingau de milho com proteína normal e milho QPM. No entanto, o aumento da velocidade do parafuso resulta na diminuição da solubilidade da proteína. As condições ideais de extrusão para milho QPM foram 14,19 – 15,36 % de umidade de alimentação (em base seca), velocidade do parafuso de 411,61 – 466,50 rpm e temperatura do cilindro de 150 °C. As condições ótimas de extrusão foram 14,02 – 14,17% de umidade de alimentação (em base seca), e temperatura do barril de 171,27 – 173,47 °C. Velocidade do parafuso de 404,05 rpm. Com base nesses resultados, concluiu-se que o milho normal e milho QPM pode ser extrudado conseguindo-se níveis aceitáveis de expansão para a elaboração de alimentos prontos para consumo (mingaus, *snacks* cereais matinais), com qualidade nutricional. Porém, sabe-se que milho QPM é um híbrido de difícil acesso à área comercial, pois ainda não foram superadas as questões de produção e produtividade.

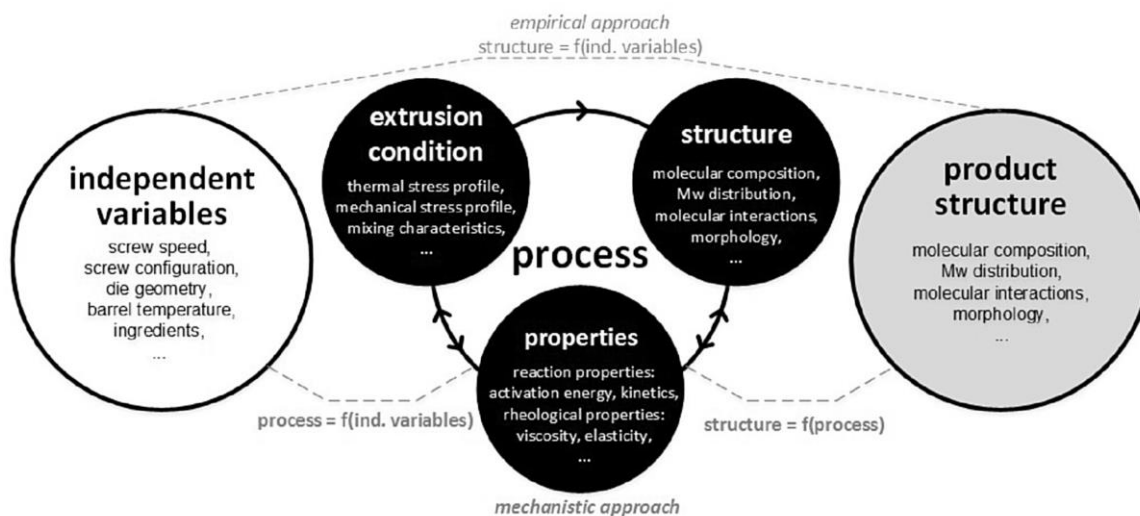
Tem sido dito que para que os bioplásticos proteicos sejam comercialmente viáveis, eles precisam ser processados usando o equipamento atualmente usado para termoplásticos sintéticos. Bioplásticos proteicos são frequentemente quebradiços e sensíveis no meio aquoso, e superar isso, é uma das forças motrizes por trás da pesquisa em este campo. As propriedades físico-químicas e as condições de processamento são frequentemente governadas pelas propriedades estruturais da proteína e, portanto, também pelas propriedades do material final. (BIER, 2013). Este autor comenta que o comportamento viscoelástico dos polímeros amorfos ou semicristalinos pode ser dividido em regiões, como, (1) vítreos, (2) estados de fluxo semelhante ao couro, (3) borracha e (4) viscosos. A transformação de uma região para outra depende da temperatura do processo, enquanto a temperatura em que cada transição ocorre depende da estrutura do polímero. O processamento só pode ser feito acima das temperaturas correspondentes ao fluxo de formação de borracha na região. A maioria da literatura sobre bioplásticos proteicos sugere que o processamento seja feito acima do ponto de amolecimento da proteína, o que implicaria em uma temperatura bem acima do Tg. Na **Figura 1.4**, são apresentados os modelos propostos da possível formação estrutural entre complexos proteicos, amiláceos e lipídicos (BIER, 2013).



14 **Figura 1.4.** Monômeros e microestrutura de amido, proteínas e exemplos de termoplásticos sintéticos. Fonte: BIER (2013).



Na **Figura 1.5**, é apresentado um esquema da inter-relação mecanicista entre variáveis independentes, condição de extrusão, propriedades do material e estrutura no processamento de extrusão. Dessa forma, cada material estaria influenciado pelas diferentes circunstâncias que envolvem o processo, assim matérias primas com suas características, parâmetros de processamento e os efeitos que por essas ações resultam em produtos com características peculiares. Segundo STEEL (2012), cada cereal tem uma composição diferente de sua farinha que depende basicamente do nível de componentes não amiláceos, como proteínas e fibras. Por exemplo, as farinhas de milho e arroz são geralmente mais ricas em amido do que a farinha de trigo devido ao menor teor de proteína e fibra. As farinhas de aveia são ricas em óleo e fibra, apresentando o menor teor de amido.



**Figura 1.5.** Inter-relação mecanicista entre variáveis independentes, condição de extrusão, propriedades do material e estrutura no processamento de extrusão. Fonte: EMIN e SCHUCHMANN (2017).

Um dos principais desafios durante o processo de extrusão, é a determinação e caracterização de os parâmetros decisivos para as mudanças estruturais pretendidas. A extrusão é um processo contínuo operando em estado dinâmico estacionário de equilíbrio. Na maioria dos estudos, as extrusoras são consideradas caixas pretas, como a influência dos parâmetros do processo na extrusão resultante as condições e seus efeitos nas mudanças estruturais são desconhecidos. Portanto, o controle deste processo e projeto de novos extrudados os produtos ainda se baseiam principalmente em conhecimentos empíricos. A abordagem empírica vincula variáveis de processo independentes (por exemplo, velocidade do parafuso, temperatura do barril, conteúdo de água, ingredientes) até conseguir o final da estrutura e características do produto. Foi demonstrado que o sucesso para muitos produtos alimentícios convencionais, que é atribuído ao manejo adequado dos parâmetros de extrusão para bons resultados. No entanto, não permitem determinar os mecanismos responsáveis pelas mudanças estruturais. Com o aumento da complexidade dos sistemas alimentares, a abordagem empírica convencional geralmente falha em fornecer compreensão fundamental e não é eficiente em encontrar respostas entre o grande número de parâmetros que influenciam a estrutura e funcionalidade do produto alimentar. Além disso, a extensão da gama de produtos e o aumento de escala do

processo permanecem muito desafiadores, como a informação obtida é altamente material e máquina dependente (EMIN e SCUHMANN, 2017).

### **1.1.6 Lipídeos**

No trabalho de AREAS (2009), foi relatado as interações lipídio-proteína que podem ocorrer como consequência do processo de extrusão, de uma forma semelhante à relatada para interações amido-lipídio. No entanto, essas interações provaram ser benéficas para a extrusão de resíduos com produtos de matadouro, como por exemplo pulmão bovino. As tentativas iniciais de extrusão de várias proteínas animais residuais das indústrias de carnes e laticínios foram decepcionantes, sendo possível apenas quando a proteína de soja foi adicionada em uma alta porcentagem ao pulmão bovino, por exemplo. Os produtos extrudados finais, em todos os relatórios, eram geralmente mais difíceis de se outorgar alguma qualidade do que os obtidos com proteína de soja e de mais pobre qualidade de textura. A deterioração da sua qualidade sempre foi considerada dependente da quantidade de proteína animal adicionado. A primeira extrusão bem-sucedida de proteína animal pura sem adição de soja foi realizado com proteína que primeiro tinha que ser isolado do tecido e desengordurado com solvente orgânico. Efeitos marcados da interação lipídio-proteína foram observadas após o isolamento da proteína dos tecidos e sua subsequente desengordurante, especialmente em sua capacidade de hidratação e extrusão. Extrusão de proteína pulmonar foi realizado para melhorar a textura e algumas propriedades funcionais dos produtos originais. Como relatado em outros sistemas, estudos realizados com proteínas puras de pulmão desengorduradas com clorofórmio e etanol, que produziram farinhas com dois casos extremos de composição, ou seja, 6,5% de lipídio residual na farinha com o antigo solvente e apenas 0,5% de lipídio residual com o último, mostrou que o conteúdo de lipídio foi decisivo para o tipo de interação entre as proteínas nos extrudados. Por outro lado, SCHWEIZER et al., (1986), relataram o efeito dos lipídios nas propriedades físicas, degradação e formação de complexos de amido em farinha de trigo processados por extrusão e secagem por tambor, verificaram que se aponta para a possibilidade de que complexos de amilose-lipídio, formados após a extrusão e ao passar pelo secador de tambor, diferem daqueles formados durante a gelatinização da farinha nativa em excesso de água ou precipitado com a adição de monoacil lipídeos a soluções de amido. Considerando as condições completamente diferentes que prevalecem nessas várias situações, e, especialmente, o curto tempo disponível para a complexa reforma no final da secagem em tambor e extrusão, tais diferenças são plausíveis.

### **1.1.7 Fibra**

De acordo com CAMIRE e KING (1991), que estudaram os efeitos de diferentes fontes de fibra dietética no comportamento da proteína durante a extrusão, e é necessária para explicar a redução na lisina disponível e o aparente aumento da solubilidade do nitrogênio. A celulose de algodão e fibra de cotilédone soja usada na substituição de 10% do peso para fubá pareceu ter um impacto mínimo sobre as muitas características físicas dos salgadinhos de milho extrudado. Além disso, uso de isolado proteico de soja na reposição de 15% causou aumento



da expansão, cor mais escura e menos sabor estranho. Portanto, níveis mais baixos deste material podem ser usados quando da fabricação de um produto semelhante.

De acordo com YANNIOTIS, PETRAKY e SOUMPASI (2007), estudaram o efeito das fibras de trigo e pectina na expansão radial, porosidade, umidade e dureza do amido de milho extrudado e verificaram que o grau de expansão do extrudado está relacionado ao tamanho, número e distribuição das células de ar circundadas pela matriz cozida. As fibras reduziram o tamanho das células, provavelmente causando a ruptura prematura das células de gás, o que obviamente reduz a expansão geral. Sabe-se que a taxa de expansão do amido depende principalmente do seu grau de gelatinização. A água está bem estabelecida como um plastificante das regiões amorfas dos grânulos de amido e, além disso, promove a ruptura das ligações de hidrogênio e a formação de novas ligações de hidrogênio entre ela e as cadeias de amido associadas. Quando polissacarídeos não amiláceos, como a pectina, estão presentes, eles têm a capacidade de se hidratar e, conseqüentemente, competir e restringir o plastificante e, portanto, o processo de gelatinização. Além disso, a pectina, adicionado neste trabalho como componente de fibra, provavelmente aumenta a viscosidade do fundido, tornando assim a expansão radial na saída mais difícil. Portanto, a pectina reduz a expansão radial, aumentando a viscosidade do fundido e reduzindo a disponibilidade de água para o processo de gelatinização. Na conclusão, os autores comentaram que o exame macroscópico e microscópico mostrou que extrudados contendo pectina não mostraram qualquer diferença aparente no tamanho e no número de células em comparação com extrudados de amido de milho sem pectina ou fibra, enquanto em extrudados com fibra de trigo o tamanho das células era obviamente menor e o número de células mais altas. A pectina reduziu a expansão radial e a dureza do amido de milho extrudado e aumentou a porosidade. As fibras interferem com a expansão das bolhas e redução da expansão, tamanho das células e porosidade. As fibras também reduziram o teor de umidade e aumentaram a dureza. A interação entre as fibras e a pectina não deram um efeito estatisticamente significativo em nenhum dos atributos estudados.

No estudo de CHEN et al., (2018), informaram que as propriedades estruturais e físico-químicas de fibra alimentar solúvel (SDF1) e (SDF2), extraídos de pós não extrudados e extrudados, respectivamente, de raiz de lótus foram caracterizadas por MEV, FTIR (*Fourier-transform infrared spectroscopy*), cromatografia gasosa (GC) e análise reológica. A observação do MEV mostrou que o SDF1 tinha uma estrutura escamosa, lisa e brilhante, enquanto o SDF2 tinha uma estrutura granular com forma irregular, que também continha alguns grânulos grandes, com uma estrutura em favo de mel rodeada por pequenas partículas. A análise espectral infravermelha, mostrou que não havia diferença significativa entre SDF1 e SDF2 no pico de absorção, mas algumas pequenas diferenças na intensidade de absorção de alguns picos e forma. A análise por GC mostrou que os monossacarídeos em SDF1 e SDF2 eram compostos de ramnose, arabinose, glicose, manose, xilose e galactose com o principal componente sendo glicose, mas a extrusão aumentou o conteúdo de manose e xilose. A extrusão também pode melhorar significativamente as características de hidratação do SDF, incluindo capacidade de dilatação, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de óleo e emulsão. As propriedades reológicas do SDF1 e SDF2 foram quase as mesmas e a viscosidade do SDF foi reduzida com o aumento da temperatura e da taxa de cisalhamento. A adição de cloreto de sódio teve pouco efeito na viscosidade da solução SDF. O estudo reológico dinâmico mostrou que as

duas soluções SDF tinham propriedades sólidas semelhantes. Os resultados deste estudo podem facilitar pesquisas futuras sobre a relação estrutura-atividade de SDF e aplicação industrial de extratos de fibra alimentar.

### 1.1.8 Carotenoides

De acordo com RIAZ, ASIF e ALI (2009), informaram que dentre as vitaminas lipossolúveis, um possível efeito adverso do processamento de alimentos e rações por meio da extrusão ocorre a destruição das vitaminas. Vitamina A (retinol, palmitato de retinila, retineno, ácido retinóico, vitamina A2 -origem de peixe- e axeroftol). A deficiência de vitamina A é uma das principais causas da cegueira, e esta vitamina também é muito importante para o funcionamento saudável do sistema imunológico. Muitas formas diferentes de vitamina A e pró-vitamina A estão disponíveis para fortificação.

A maioria dos cereais usados para lanches que são criados pelo cozimento por extrusão são deficientes em vitamina A. Em estudos da destruição da vitamina A na mistura milho-soja-amendoim foi de 52,5% durante a extrusão. Porém, apenas 24,9% quando o mesmo material foi fervido por 2 min, quando ao  $\beta$ -caroteno adicionado antes da extrusão, aproximadamente 75% foi destruído, mas quando a vitamina foi alterada com uma solução de álcool a fonte de vitamina A (retinol), vitamina A acetato, ou palmitato de vitamina A, tinha retenções variando de 50 a 90%. A destruição de todas as formas de vitamina A diminuiu conforme a velocidade do parafuso foi aumentada, provavelmente devido ao menor tempo de residência, mostrando que, tempos de residência de extrusão mais longa foram destrutivos para a vitamina A em comparação com o efeito de cisalhamento a uma temperatura de extrusão de 130 °C. Semelhante descobertas foram relatadas por EMIN, MAYER-MIEBACH e SCHUCHMANN (2012), já que o cozimento por extrusão a 180 °C mostrou-se um tratamento mais drástico para o pigmento ( $\beta$ -caroteno) do que o simples aquecimento por um longo período (2 h) na mesma temperatura.

A vitamina A, que é muito instável à oxidação é perdido rapidamente durante o armazenamento porque está mais exposto ao oxigênio do que durante a extrusão (HAPER, 1988). Aumentando a temperatura do barril de 125 a 220 °C resultou em mais de 50% destruição de todo o  $\beta$ -caroteno trans na farinha de trigo (GUZMAN-TELLO e CHEFTEL, 1990). Segundo PEZZATO (1998), relatou que quando o processo de extrusão é utilizado para a fabricação de rações de peixes pode resultar em perdas de alguns nutrientes, principalmente vitamina A e seu precursor,  $\beta$ -caroteno. O oxigênio e o calor destroem a vitamina A e os carotenoides relacionados. O  $\beta$ -caroteno é um antioxidante e um precursor da vitamina A.  $\beta$ -caroteno é normalmente adicionado aos alimentos para dar cor laranja, mas é instável quando usado, o que requer de atenção para evitar perdas.

Um produto foi feito por HOF (2006) com a extrusão de farinha de arroz fortificado com vitaminas e minerais, descobriu que a retenção média de vitamina A neste produto experimental foi de 48% para grãos secos e 37% após o cozimento. De acordo com CHARLTON e EWING (2007) essa vitamina é instável à oxidação, luz, umidade, calor, minerais, gordura ácida e rançosa. Na **Tabela 1.3** são apresentadas as típicas perdas de diferentes vitaminas durante processos térmicos e estocagem. Sendo que o amido e os

carotenoides de milho são sintetizados nos cloroplastos das folhas e nos amiloplastos do endosperma, durante o processamento por cozimento por extrusão de produtos expandidos, os carotenoides atuam como fontes de cor e antioxidantes e o endosperma contribui para a expansão, cor e textura. O endosperma é o principal tecido de armazenamento de amido e proteína. É composto por duas frações; endosperma vítreo e endosperma amiláceo (SHAIK et al., 2014), responsáveis pela expansão ocorrida durante o processamento por extrusão. Durante o cozimento por extrusão, a umidade da matéria prima e/ou formulação é o principal fator que afeta as propriedades físico-químicas dos extrudados expandidos de milho (GUJRAL; SINGH; SINGH, 2001). A água facilita a transferência de calor por convecção e em combinação com o perfil de temperatura definido, ambos plastificam o material de alimentação.

A temperatura do material plastificado é aumentada ainda mais com a dissipação da energia mecânica necessária para girar o parafuso (GODAVARTI e KARWE, 1997). Nessas condições, o amido e as proteínas são transformados e fundidos (BRENT et al., 1997). A resistência ao fluxo de fusão através da matriz causa aumento de pressão dentro da extrusora. Com a ação combinada de pressão, temperatura e cisalhamento, os compostos bioativos podem ser liberados ou posteriormente encapsulados com esses principais polímeros, por meio de emaranhamentos moleculares (BAMIDELE e EMMAMBUX, 2020). O processamento por extrusão com baixa umidade causa maior degradação de compostos bioativos (ORTIZ-CRUZ et al., 2020), uma vez que nessas condições mais calor é gerado por forças de cisalhamento e a temperatura do material fundido é elevada a níveis capazes de produzir degradação térmica na última zona da extrusora (BORSARELLI e MERCADANTE, 2009). Além disso, o ar aprisionado no sistema, a partir de poros de ar inter e intragranular, pode aumentar o teor de oxigênio a níveis que favorecem as reações de oxidação de compostos bioativos (MARTY; BERSSET, 1990).

**Tabela 1.3.** Perdas típicas de diferentes vitaminas durante o peletizado e extrusão.

<b>Vitaminas</b>	<b>Minerais/Premix de vitaminas</b>	<b>Peletizado a 70 °C</b>	<b>Peletizado a 90 °C</b>	<b>Extrusão a 80 °C</b>	<b>Enlatado</b>	<b>Estocagem</b>
Vitamina A	1% /m	10%	30–40%	30%	Acima de 70%	6–7% /m
Vitamina D	10% /m	15%	35%	25%	–	10% /m
Vitamina E	2% /6 m como acetato	10%	15%	10%	–	–
Vitamina K	34–38% /m	20%	40%	50%	–	50% componente da ração
Vitamina B1	50% /3 m	15%	50%	50%	Acima 70%	5–20%/m
Vitamina B2	5–40%	10%	15%	20%	–	2–10%/m
Vitamina B6	20% /m	10%	30%	5–25%	3–5%	2–5% /m
Niacina	2–4%/m	5%	10%	10–30%	5%	1–2%
Ácido Pantoténico	1–8%/m	10%	20%	10–20%	–	0–5% /m
Colina	10% /6 m	5%	5%	Low	RNS	3% / 6 m
Ácido fólico	10–40% /m	5–20%	45%	50%	50%	10–50% /m

RNS: redução não significativa; m: Mês. Fonte: CHARLTON e EWING (2007).

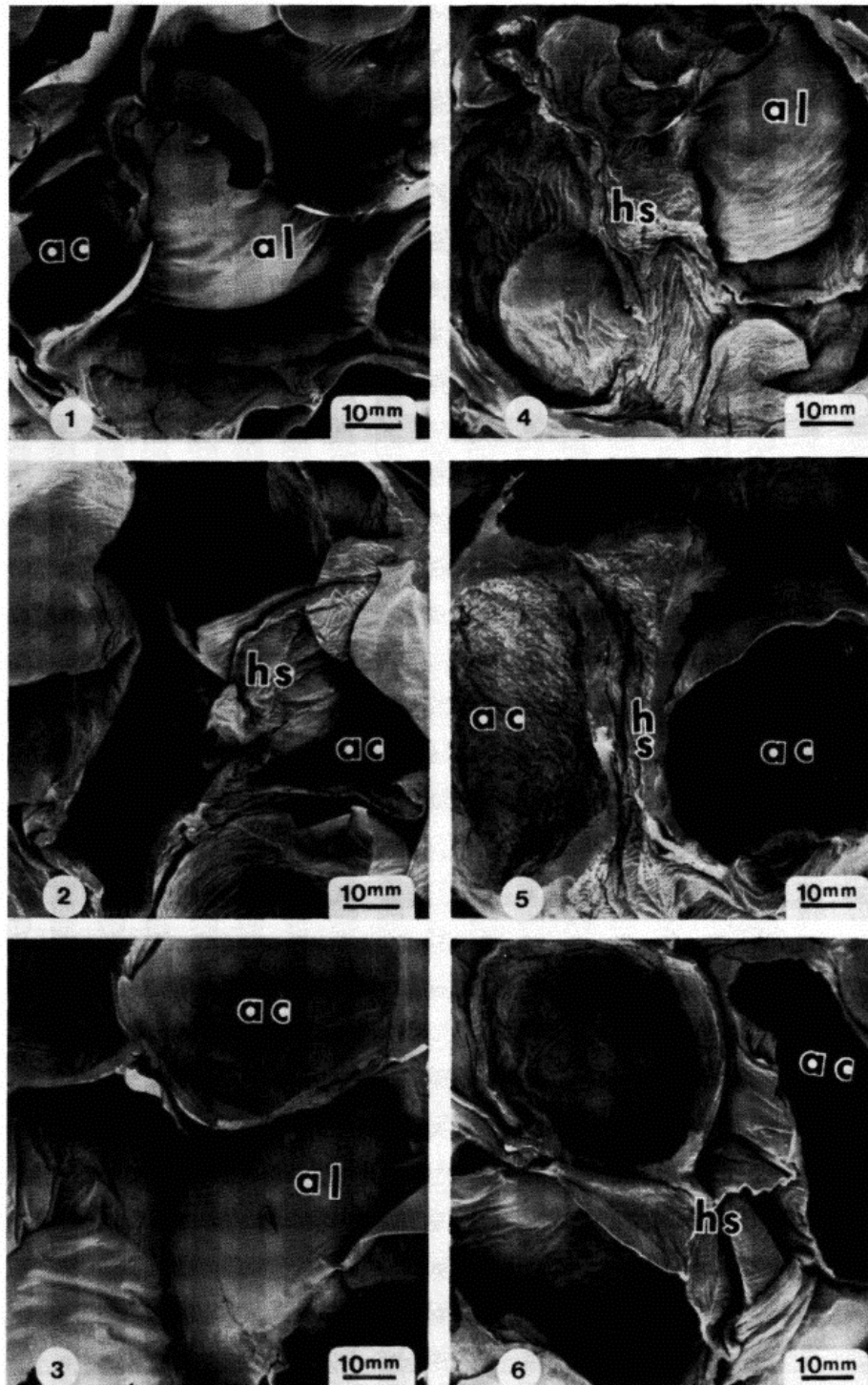
### 1.1.9 Microestrutura de produtos expandidos extrudados de *grits* de milho

O interesse do consumidor em salgadinhos prontos para consumo está crescendo devido à sua conveniência, valor, aparência, sabor e textura atraentes. *Snacks* extrudados à base de cereais são os mais comumente consumidos. Extrusoras podem misturar os diversos ingredientes usados para desenvolver novos salgadinhos. A qualidade do produto final depende das condições de processamento utilizadas durante a extrusão e está incluída a composição das matérias primas, umidade de alimentação, temperatura do barril, velocidade e configuração do parafuso. Além disso, os ingredientes e a formulação desempenham um papel importante no desenvolvimento da textura do produto extrudado e, finalmente, a aceitabilidade do produto para o consumidor. As condições sob as quais o produto é processado determinarão a capacidade de retenção dos compostos funcionais termolábeis, incluindo vitaminas, pigmentos como  $\beta$ -caroteno e compostos voláteis de sabor. Portanto, o processamento deve ser cuidadosamente controlado para otimizar a retenção dos componentes funcionais. A maioria dos salgadinhos contém uma alta proporção de milho, arroz, trigo, aveia entre outros cereais ou pseudocereais (quinoa e amaranto) derivados de raízes e tubérculos como fontes de carboidratos podem ser adicionados. (NOR et al., 2013). Nesse sentido, dependendo do material utilizado na formulação, condições de processamento, entre outros fatores, teremos uma grande variedade de texturas e conseqüentemente microestrutura dos materiais expandidos por extrusão.

No trabalho de OLLETT et.al. (1990), verificou-se as mudanças microestruturais que ocorrem durante o cozimento por extrusão de *grits* de milho usando microscopia óptica e difração de raios-X. A ruptura completa das partículas de *grits* de milho e seus constituintes amiláceos estão relacionados com os efeitos no processo de extrusão, entre eles o torque que provocaram mudanças nos níveis de absorção e solubilidade em água desse material. Essa ruptura também inclui parâmetros umidade de processamento, temperatura do barril e configuração do parafuso. O formato cristalino do tipo E formado pelo complexo amilose-lipídio manifestou-se no intervalo de temperatura de 90-150 °C, onde o *grits* de milho extrudado teve uma baixa taxa de cisalhamento. Na visualização no microscópio óptico a amostra extrudada a 130 °C visto em baixa ampliação sob luz polarizada, verificou-se duas peças de *grits* de forma triangular onde se mostra a cruz de malta, características de grânulos de amido não gelatinizados.

De acordo com o trabalho de OWUSU-ANSAH, VOORT e STANLEY (1984), as micrografias eletrônicas de varredura de alguns dos extrudados são mostradas na **Figura 1.6**. Produtos altamente expandidos mostraram estruturas muito porosas com grande número de bolsas de ar. O exame estrutural revelou que a redução da umidade da alimentação era essencial para o desenvolvimento de uma estrutura porosa. A porosidade aumentou com o aumento da expansão e diminuição da resistência à quebra. O padrão de deformação da força foi encontrado para estar relacionado à microestrutura em que produtos altamente porosos mostraram uma série de picos antes da quebra ser concluída (**Figura 1.6**) e o número de picos produzidos foi relacionado à porosidade (ou seja, o número e distribuição das bolsas de ar) Amostras altamente porosas tiveram uma média de  $7,0 \pm 1,0$  picos em comparação com  $3,0 \pm 0,5$  para extrudados menos porosos. Observações semelhantes foram feitas na literatura (STANLEY e DEMAN,

1978) e foi sugerido que o número de picos está relacionado à microestrutura e pode ser útil como um índice para atributos sensoriais, como a crocância.



**Figura 1.6.** Micrografias eletrônicas de varredura de amido de milho extrudado (seção transversal). As condições de extrusão são apresentadas em termos de temperatura, umidade e velocidade do parafuso com as características estruturais indicadas como cavidades de ar (ac), lóbulo de ar (al) e estruturas endurecidas (hs). Fonte: OWUSU-ANSAH, VOORT e STANLEY (1984).

Segundo as conclusões do trabalho de LONG, YU e CHRISTIE (2005), o grau de orientação estrutural para materiais à base de amido pode não ser alcançado na mesma medida que os polímeros convencionais, como a poliolefina devido às ligações cruzadas físicas por ligações de hidrogênio e um peso molecular mais alto. A amilopectina gelatinizada forma microestruturas exclusivas: bola de gel e super-globo. A orientação não afeta a taxa de cristalização da amilopectina por causa de estruturas de tipo bola de gel e super-globo. As bolas de gel e super-globo podem ser deformadas sob tensão de cisalhamento, orientados ao longo da direção da extrusão. Contudo, a deformação das bolas de gel e super-globo fez com que as cadeias de polímero dentro do globo se orientem significativamente. A orientação aumentou o módulo e a tensão de escoamento, mas diminuiu o alongamento. O efeito da orientação no módulo, a tensão de escoamento e o alongamento eram dependentes na razão amilose/amilopectina. As diferenças de módulo e elasticidade entre as duas direções são maiores para materiais ricos em amilose; as diferenças de alongamento são maiores para materiais ricos em amilopectina. Quanto maior o teor de amilopectina, menor o alongamento na direção de extrusão transversal. O modelo de bola de gel e super-globo foi usado para explicar a relação entre microestruturas e propriedades mecânicas. O modelo também pode ser usado para explicar outras propriedades à base de materiais amiláceos, como comportamento de processamento e tempo de relaxamento.

Considerando o manifestado por ZHANG et al., (2014), os grânulos de amido nativo são biosinteticamente montados como estruturas semicristalinas, que consistem em estruturas amorfas e regiões cristalinas. Tanto as cadeias de amilose quanto os ramos da amilopectina formam hélices duplas, que por sua vez se associam e formam domínios cristalinos. A aplicação do raio X difração (XRD) no estudo da cristalinidade do amido tem mostraram que existem três padrões de cristais de difração de raios-X em grânulos de amido, nomeadamente tipos A, B e C. Em um tipo A, rede de cristal, as hélices duplas são embaladas em uma antiparalela forma formando uma célula unitária ortorrômbica, resultando em quase uma embalagem fechada hexagonal. Amidos de cereais (arroz, trigo e milho) exibem um padrão tipo A. Em grânulos de tipo B, as hélices duplas também empacotam de maneira antiparalela, mas formam uma célula hexagonal unitária com duas hélices por célula, deixando um canal aberto que é preenchido com moléculas de água. Em contraste em grânulos de amido, tipo A esta coluna de água é substituída por uma dupla hélice. Tubérculos, frutas e amidos de milho com alto teor de amilose (> 40%) exibem um padrão tipo B. O grânulo do tipo C é considerado uma estrutura intermediária dos tipos A e B, observada para amidos de sementes de leguminosas. No padrão DRX, o cristal tipo A, a rede mostra três picos fortes em 5,8; 5,2 e 3,8 Å. Tipo B grânulos mostram um pico em 15,8-16,0 Å, uma ampla intensidade em aproximadamente 5,9 Å, uma linha forte em 5,2 Å, e uma linha dupla de média intensidade em 4,0 e 3,7 Å; o grânulo tipo C é idêntico aos grânulos do tipo A exceto para a adição de uma taxa de crescimento de 2 °C/min. Tg pode ser definida como o ponto médio entre o início da queda em o módulo de armazenamento ou picos delta (ZHANG, et al., 2014).

Num outro trabalho, referente à expansão de extrudados, ZHANG & HOSENEY (1998) comentaram que em pequenas diferenças nos conteúdos de proteínas e lipídios do milho os expandidos com propriedades de expansão fracas e boas não foram consideradas responsáveis por suas propriedades de extrusão diferentes. A diferença na distribuição das classes de

proteínas entre as duas amostras também era pequena e, portanto, foram consideradas improváveis de ser responsáveis pelas diferenças nas propriedades de extrusão. A farinha de milho que produziu um pellet de milho mal expandido teve um tamanho de partícula maior combinado com um número maior de partículas opacas. Partículas de maior tamanho, por si só causaram, baixa expansão; contudo, a diferença no tamanho das partículas entre o milho bom e o milho ruim os expandidos eram relativamente pequenos e não totalmente responsáveis pela diferença na expansão. O milho ruim também teve um número maior de partículas opacas. Os pequenos vazios no endosperma opaco agem como capilares e diminuem o volume da expansão. Como resultado, menos água tinha disponível para hidratação das partículas vítreas. No tempo limitado disponível para maiores transformações, a plastificação dessas partículas é insuficiente pela presença de água. As partículas não se fundiram durante a extrusão e têm sido retidos do seu estado original no produto final. A presença de partículas vítreas não fundidas resultou em boa expansão.

#### **1.1.10 Aspectos relacionados aos parâmetros de extrusão, matéria prima e seus efeitos nos extrudados**

##### *- Torque e energia mecânica específica na extrusão*

Uma das determinações para avaliar o processo de extrusão é o torque (Nm) provocado pelo esforço mecânico do material dentro da extrusora. Especialmente importante porque é uma medida do consumo de energia do sistema de extrusão e também permite avaliar parte dos custos de produção. Essas medidas relacionam o trabalho mecânico e as forças de cisalhamento no produto. Quanto maior o valor, maior a energia mecânica de entrada (AHMED, 1999). Dependendo da composição química, tamanho de partícula, formulação proposta no processo, quantidade de umidade adicionada, diâmetro, tamanho e formato da matriz, configuração do parafuso, o torque terá determinado valor. Isto implica, que processar farinha de mandioca por exemplo, que na sua composição possui baixos valores de proteína (cerca de 1,5%) e mínimos teores de lipídios (0,3%), será diferente quanto ao esforço mecânico, que processar farinha de feijão, pois este último possui cerca de 35% de proteína, lipídios cerca de 2%.

Segundo GUERERO et al (2012), em uma operação de extrusão típica, as duas principais fontes de energia associadas à mudança de entalpia do extrudado são a transferência de calor por convecção entre o barril quente ou frio do material, e a dissipação viscosa da energia mecânica em calor dentro do material (HARPER, 1989, WANG, 2018). A taxa de transferência de calor por convecção é proporcional à quantidade de área de contato entre o barril e o material que flui, enquanto o calor gerado devido à dissipação viscosa é proporcional ao volume do material. As extrusoras de parafuso duplo têm uma capacidade consideravelmente maior de troca de calor do que as extrusoras de parafuso único. Além disso, a direção da rotação do parafuso, o seu formato, a sua configuração e a posição relativa das seções do parafuso minimizam os fluxos de pressão e vazamento. Em uma extrusora de dupla rosca co-rotativa, a dissipação viscosa da energia mecânica predomina, especialmente em baixos teores de umidade, tornando o processo de extrusão altamente eficiente em termos energéticos e de baixo custo. A energia mecânica específica (*EME*) é a quantidade de energia mecânica dissipada



como calor no interior do material, expressa por unidade de massa do material. Especificamente, é a entrada de trabalho do motor de acionamento no material sendo extrudado e, portanto, fornece uma boa caracterização do processo de extrusão (GUERRERO et al., 2012).

Segundo HARPER (1989), a extrusão térmica expõe os ingredientes proteicos a alta temperatura, alta pressão e cisalhamento mecânico, o que converte a proteína de soja em uma “fusão” plástica contínua, resultando na desnaturação da proteína e redução da solubilidade. Dentro do processo, as frações solúveis em água da proteína de soja (globulinas 7S e 11S) passam por um complexo padrão de reação de associação-dissociação (CHEFTEL et al., 1986). Um dos efeitos da extrusão é desmontar proteínas e então remontá-las por ligações dissulfeto, ligações de hidrogênio e interações não covalentes formando extrudados de estrutura fibrosa. No entanto, foi demonstrado que o processamento de extrusão de folhas de proteína de soja contendo baixas partes de glicerol resultou em materiais muito quebradiços após a perda de umidade (ZHANG et al., 2001), de modo que o uso de teores de glicerol mais elevados parece ser necessário para tornar as cadeias de proteínas móveis. A quebra de ligações intermoleculares que estabilizam a proteína em sua estrutura primitiva, bem como a orientação e reestruturação das cadeias com a formação de novas ligações intermoleculares, estabiliza a rede tridimensional formada.

#### - Características do grits e tamanho de partícula

Os produtos extrudados expandidos também são caracterizados pela sua crocância, através da textura instrumental e cor (CARVALHO, et al. 2010). As características sensoriais que são fornecidas pelas propriedades intrínsecas dos grãos de milho normais, cujo endosperma é geralmente composto por aproximadamente 25% de amilose e 75% de amilopectina (SHAIK et al. 2014), fazem com que os extrudados resultantes sejam de excelente aceitabilidade pelos consumidores.

Vários estudos têm reportado que a distribuição do tamanho de partícula tem muita relação e importância com os resultados de expansão e da sua microestrutura formada com os diferentes parâmetros de manejo no processo de extrusão (SHEVKANI, 2007). Comercialmente são distribuídos *grits* com diferentes perfis granulométricos. Na **Tabela 1.4** são expostos diferentes tipos de *grits* que são comercializados pela empresa *Milhão Alimentos* (Goiânia, Brasil). Os fabricantes de *snacks* utilizam estes produtos segundo o tipo de expansão e microestrutura esperada para determinado produto (AL-RABADI et al., 2011).

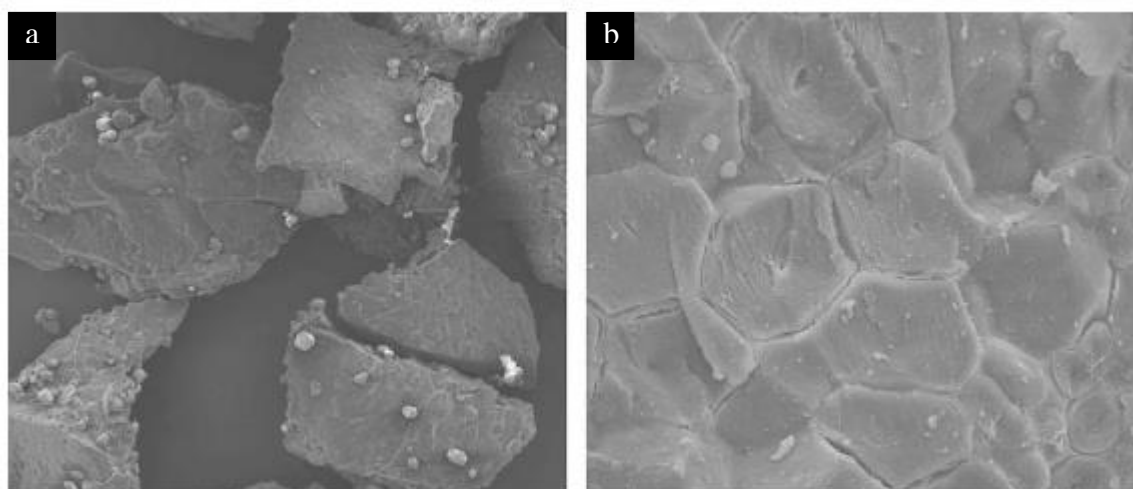
**Tabela 1.4.** Distribuição granulométrica para *Snackmix* 200, 300 e 400 (Milhão Alimentos).

% Retenção nas peneiras (ABNT):	<i>Snackmix</i> 200	<i>Snackmix</i> 300	<i>Snackmix</i> 400
14 (1,410 mm)			Máx. 15,0
16 (1,180 mm)		Máx. 1,0	Máx. 40,0
20 (0,850 mm)	Máx. 2,0	Mín. 60,0	Máx. 40,0
25 (0,710 mm)	20,0-40,0	Máx. 30,0	Máx. 10,0
40 (0,425 mm)	Mín. 50,0	Máx. 10,0	Máx. 2,00
50 (0,300 mm)	Máx. 10,0	Máx. 2,0	Máx. 1,00
Fundo	Máx. 3,0	Máx. 1,0	Máx. 0,00

## - Microestrutura

O uso da micrografia (MEV) é uma constante na tentativa de verificar mudanças na microestrutura de produtos submetidos a processo térmicos de materiais amiláceos. Diversos trabalhos têm sido apresentados mostrando os efeitos dos parâmetros de extrusão em diferentes cereais, tais como milho, sorgo, trigo, aveia, entre outros (BATTERMAN-AZCONA; LAWTON; HAMAKER, 1999; CHEN et al., 2011; FITCH-VARGAS et al., 2016).

A micrografia da **Figura 1.7** em MEV apresenta o *grits* de milho cru e expandido do subconjunto de fração de peneira 180. A microestrutura do *grits* de milho crua revelou grandes partículas fraturadas (250x) com as partículas arredondadas menores, possivelmente grânulos de amido intactos liberados durante a moagem, aderindo à superfície (**Figura 1.7a**). A imagem de superfície com maior ampliação (2500x) mostrou células individuais irregulares (**Figura 1.7b**) sem evidência de danos à integridade da parede celular. Como resultado da severidade do cisalhamento do amido. A microestrutura de fubá de milho cru (**Figura 1.7b**) contrasta com o fubá de milho expandido (CARVALHO et al., 2010).



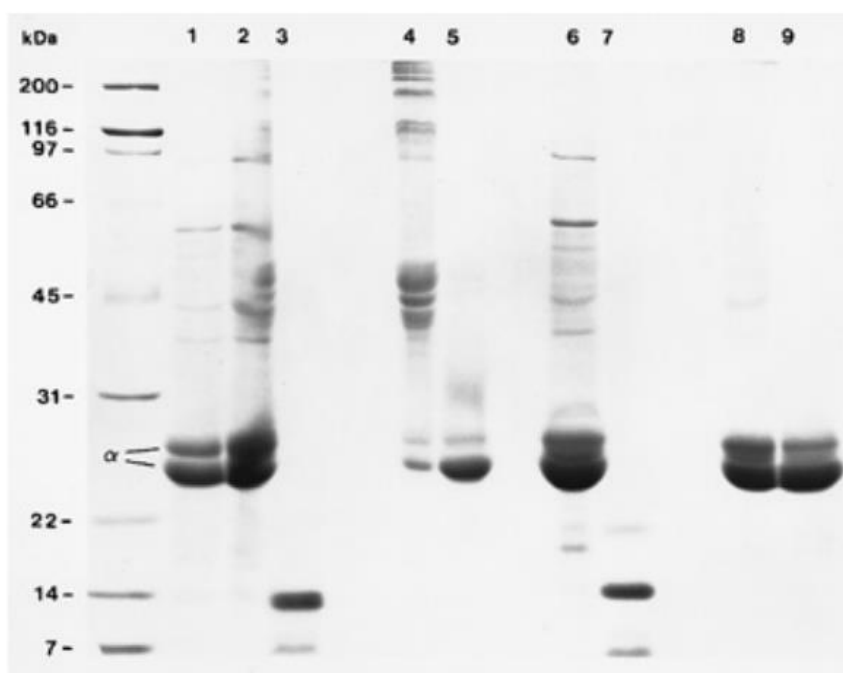
**Figura 1.7.** Micrografias eletrônicas de varredura da fração de fubá de milho cru 180: (a) ampliação de 250x e (b) ampliação de 2500x. Fonte: CARVALHO et al. (2010).

### 1.1.11 Utilização da eletroforese na identificação e modificação das zeínas de *grits* de milho e extrudado

O milho geralmente contém 8 – 9% de proteína, das quais ~60% são zeínas (HAMAKER B.R. et al., 1995; WONG et al., 2009), a proteína de armazenamento do milho. As zeínas são prolaminas localizadas em organelas esféricas chamadas corpos proteicos com uma região periférica ligada a pontes dissulfeto (LENDING; LARKINS, 1989). Eles são subdivididos em três classes principais,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , que diferem no peso molecular, localização dentro dos corpos proteicos e sequência de aminoácidos.  $\alpha$ -Zeína, que constitui 75 – 85% do zeína total, está localizada na porção central do corpo da proteína e é composta por dois polipeptídios de 22.000 e 19.000 (LENDING; LARKINS, 1989).  $\alpha$ -Zeína contém grandes quantidades dos aminoácidos glutamina e leucina, bem como outros aminoácidos hidrofóbicos.

$\beta$ -Zeína, que representa 10 – 15% da zeína, é feito de um polipeptídeo rico em metionina 14.000.  $\gamma$ -Zeína, que constitui 5 – 10% da zeína, é feito de dois polipeptídios ricos em prolina de 27.000 e 16.000.  $\beta$  e  $\gamma$ -Zeínas estão localizados na periferia da proteína (LENDING; LARKINS, 1989) e contêm quantidades menores de leucina e outros aminoácidos hidrofóbicos, e muito mais quantidades de cisteína do que  $\alpha$ -zeína. As zeínas tem muitas características baseadas principalmente em sua natureza altamente hidrofóbica. Eles podem formar filmes resistentes à água e são usados de forma limitada industrialmente. Não se sabe como as zeínas influenciam os parâmetros textuais em produtos de cereais matinais ou em outros alimentos processados (BATTERMAN-AZCONA; LAWTON; HAMAKER, 1999).

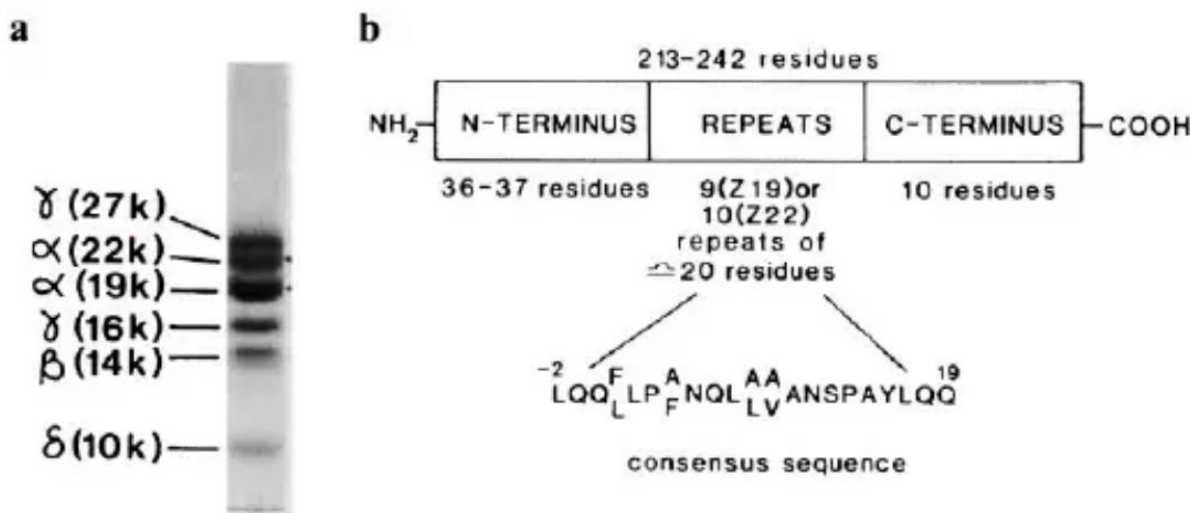
Na **Figura 1.8**, apresenta-se os resultados de SDS-PAGE de BATTERMAN-AZCONA et al. (1999), na qual mostras os picos proteicos de farinhas crua e processada. Nesse trabalho os autores concluíram que no processo convencional dos *corn flakes*, os corpos proteicos se apresentavam achatados ou deformados, porém, a maior parte ainda intacta, e as  $\alpha$ -zeínas foram apenas parcialmente liberadas. Já para os flocos de milho elaborados por extrusão, os corpos proteicos foram completamente destruídos e a  $\alpha$ -zeína ficou dispersa. Portanto, o processo de extrusão parece ser muito mais severo do que o processo de flocagem por rolos adotado pela indústria de *corn flakes*. O procedimento por *drum drying* não alterou a forma do corpo da proteína, por outro lado, por extrusão, o cisalhamento ou pressão durante o processamento pode fisicamente deformar ou interromper os corpos proteicos causando a liberação de zeína (BATTERMAN-AZCONA; LAWTON; HAMAKER, 1999).



**Figura 1.8.** SDS-PAGE dos picos de proteína 1 e 2 obtidos por exclusão de tamanho cromatografia de amostras de farinha de milho não cozida e cozida. Pistas 1 – 5 são amostras não reduzidas; as pistas 6 – 9 são amostras reduzidas. Pistas: 1, milho controle de farinha; 2, pico 1 de crus; 3, pico 2 de crus; 4, pico 1 de cozinhou; 5, pico 2 de cozido; 6, pico 1 de crus; 7, pico 2 de milho cru; 8, pico 1 de milho cozido; 9, pico 2 de amostras de farinha de milho cozida. Fonte: BATTERMAN-AZCONA et al. (1999).

LAWTON (1992), mostrou que misturando zeína isolada, amido de milho, e água a temperaturas > 30 °C, se forma uma massa viscoelásticas contendo uma extensa rede de fibra de proteína semelhante ao trigo.

De acordo com ZACHARIUS et al. (1969), a eletroforese em gel de poliacrilamida provou ser uma excelente ferramenta para a separação de proteínas e glicoproteínas de origem vegetal e animal. Uma série de procedimentos de coloração eficazes estão disponíveis para detectar bandas de proteínas, empregando corante preto no amido, nigrosina, *Coomassie Brilliant Blue e Procion Blue R.S.* Geralmente, alguma modificação da técnica de ácido periódico-Schiff (PAS) tem sido aplicada à detecção de glicoproteínas após eletroforese em papel, acetato de celulose e géis de acrilamida (ZACHARIUS et al., 1969). De acordo com a **Figura 1.9** pode ser verificado em (a) a posição das  $\alpha$ ,  $\beta$ -,  $\gamma$  e  $\delta$ - zeínas, respectivamente, observando-se que  $\alpha$ - zeínas, têm duas bandas uma de 19 kDa e outra 22 kDa.



**Figura 1.9.** SDS-PAGE unidimensional de zeínas totais de milho. (b) Estruturas esquemáticas do Mr 19000 (Z19) e Mr 22000 (Z22) uma -zeínas de milho. Fonte: SHEWRY e HALFORD (2002).

De acordo com LAEMMLI (1970), usando um método melhorado de eletroforese em gel, muitas proteínas até então desconhecidas foram encontradas no bacteriófago T4 e algumas delas foram identificadas com produtos de genes específicos. Quatro componentes principais da estrutura foram clivados durante o processo de montagem. Aparentemente, depois que as proteínas precursoras se reuniram em alguma grande estrutura intermediária. Mostrando que a metodologia proposta identificaria satisfatoriamente as glicoproteínas.

Extrudados expandidos com base em grãos de milho são geralmente processados na faixa de 13 – 18% de umidade (base úmida). Apesar de haver muitos trabalhos publicados sobre o assunto (GUJRAL; SINGH; SINGH, 2001; ILO; BERGHOFER, 1999), poucos trabalhos estudaram a perda de carotenoides nesta faixa de umidade (CUETO et al., 2017; KAISANGSRI et al., 2016), relacionando-se com as propriedades físicas do extrudado, e considerando apenas o processamento de grãos de milho, como indicadores da qualidade dos produtos extrudados. Em muitos trabalhos recentes, foi enriquecido o milho (amido, grãos ou farinha) com ingredientes ricos em carotenoides (CUETO et al., 2017; KAISANGSRI et al., 2016; ORTAK

et al., 2017), ou usado genótipos de milho biofortificado (ORTIZ et al., 2018; ROSALES et al., 2016) para produzir *snacks* extrudados mais saudáveis. Alguns deles avaliaram o efeito combinado de umidade e temperatura (ILO; BERGHOFER, 1999; KAISANGSRI et al., 2016; ORTIZ et al., 2018). Por meio de experimentos de um fator por vez (CHINNASWAMY; HANNA, 1988), relataram curvas de resposta para umidade de entrada e temperatura de barril, onde uma taxa de expansão máximo para o amido de milho foi alcançado a 12,3% (base úmida) e 140 °C. Portanto, se umidade de entrada e temperatura de barril forem variados simultaneamente dentro de uma região ótima, será possível produzir *snacks* extrudados de milho com características tecnológicas e nutricionais aceitáveis.

## 1.2 CONCLUSÃO

O *grits* de milho constitui uma das mais importantes matérias primas na produção de expandidos dentre os cereais. Dependendo das suas características, sejam de composição, estrutura de grão, variedade, condições pós-colheita, resultarão em produtos de qualidade para elaborar diversos produtos utilizando a extrusão termoplástica. O *grits*, produto do milho degerminado, submetido à moagem e peneiragem, proporciona produtos diferenciados quanto à granulometria, de forma que quando submetidos à extrusão permite a formação de diferentes texturas, segundo a aplicação dos parâmetros de processo. Uma das características importantes do milho e, conseqüentemente os diferentes tipos de *grits*, é que possui carotenoides, que o diferencia dos outros cereais. Os expandidos resultantes de *grits* de milho quando processados por extrusão estão sujeitos a diferentes parâmetros para alcançar as proporções e/ou graus de cozimento. Essas aplicações, quando extremas, promovem a perda de grande parte dos carotenoides. Nesse sentido, quando as aplicações desses parâmetros tais como, umidade de processamento, temperatura das zonas de aquecimento da extrusora, velocidade do parafuso, entre outros, fossem aplicados de forma otimizada, há uma significativa diferença na melhora da qualidade dos produtos. Ensaio realizados enfatizando propriedades físicas (índice de expansão, cor, absorção e solubilidade em água, viscosidade de pasta, etc., bem como as determinações químicas, carotenoides por HPLC, separação da massa moleculares por eletroforese, corroboram o ocorrido com o material pós extrusão. Observando por um lado, texturas, porosidades do material processado, formação de dextrinas, principalmente quando excede o processo térmico, características sensoriais típicas que fazem destes produtos tenham alta aceitabilidade e qualidade nutricional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Minor Constituents and Phytochemicals of the Kernel. **Corn: Chemistry and Technology**, 3rd Edition, p. 369–403, 2019.

AGBISIT, R. M. N. **Relationships between material properties and microstructure-mechanical attributes of extruded biopolymeric foams**. [s.l.] Manhattan, Kansas: Kansas State Univ., 2007.

AHMED, Z. S. Physico-chemical, structural and sensory quality of corn-based flax-snack. **Food / Nahrung**, v. 43, p. 253–258, 1999.

AL-RABADI, G. J. et al. Effect of extrusion temperature and pre-extrusion particle size on starch digestion kinetics in barley and sorghum grain extrudates. **Animal Feed Science and Technology**, v. 168, n. 3–4, p. 267–279, 2011.

ARÊAS, J. A. G. Extrusion of food proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 32:4, 365-392, 1992.

ASCHERI, J. L. R.; GERMANI, R., Protocolo de qualidade de milho. Rio de Janeiro, Embrapa Aroindústria de Alimentos, 2004. Série Documentos. 23 p.

BAMIDELE, O. P.; EMMAMBUX, M. N. Encapsulation of bioactive compounds by “extrusion” technologies: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–19, 2020.

BATTERMAN-AZCONA, S. J.; LAWTON, J. W.; HAMAKER, B. R. Effect of Specific Mechanical Energy on Protein Bodies and  $\alpha$ -Zeins in Corn Flour Extrudates. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 2, p. 316–320, 1999.

BIER, J. M. Structural Changes and Chain Mobility during Processing of Bloodmeal-Based Thermoplastics. A thesis. Doctor of Philosophy in Engineering. The University of Waikato. Hamilton, New Zealand. 2013

BORSARELLI, C. D.; MERCADANTE, A. Z. Thermal and photochemical degradation of carotenoids. In: LANDRUM, J. T. (Ed.). **Carotenoids physical, chemical, and biological functions and properties**. [s.l: s.n.]. p. 229–253.

BRENT, J. L. et al. Thermomechanical Glass Transition of Extruded Cereal Melts. **Journal of Cereal Science**, v. 26, n. 3, p. 301–312, 1997.

BRESSANI, R. (2010). INCAP studies of vegetable proteins for human consumption. **Food and Nutrition Bulletin**, vol. 31, no. 1 © 2010, The United Nations University.

CAMIRE, M. E. e KING, C. C. Protein and Fiber Supplementation Effects on Extruded Cornmeal Snack Quality. **Journal of Food Science**, v.56, n.3, p. 760 -763. 1991.

CARVALHO, C. W. P. et al. Relative effect of particle size on the physical properties of corn meal extrudates: Effect of particle size on the extrusion of corn meal. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 1, p. 103–109, 2010.

CHARLTON, S. J. AND EWING, W. N. The vitamin directory, England: Context Products Ltd. 2007.

CHEFTEL, J. C. (1986). Nutritional effects of extrusion-cooking. **Food Chemistry**, v.20, n.4, p.263-283, 1986.

CHEN, P. et al. Internal structures and phase-transitions of starch granules during gelatinization. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1975–1983, 2011.

CHEN, H. et al. Effects of extrusion on structural and physicochemical properties of soluble dietary fiber from nodes of lotus root. **LWT**, v. 93, p. 204-211, 2018.

CHINNASWAMY, R.; HANNA, M. A. Optimum Extrusion-Cooking Conditions for Maximum Expansion of Corn Starch. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 3, p. 834–836, 1988.

COLONNA, P. et al. Flow, mixing and residence time distribution of maize starch within a twin-screw extruder with a longitudinally-split barrel. **Journal of Cereal Science**, v. 1, n. 2, p. 115–125, 1983.

CUETO, M. et al. Carotenoid and color changes in traditionally flaked and extruded products. **Food Chemistry**, v. 229, p. 640–645, 2017.

DOBRA SZCZYK, B. J. et al. Baking, Extrusion and Frying. **Food Processing Handbook**, p. 237–290, 2006.

DUVICH, D. N. Proteins granules of maize endosperm cells. **Cereal Chemistry**, v.38, p. 374 - 385. 1961.

EMIN et al. Retention of  $\beta$ -carotene as a model substance for lipophilic phytochemicals during extrusion cooking, **LWT - Food Science and Technology**, V.48, n.2, p. 302-307, 2012.

ESEN, A. Separation of Alcohol-Soluble Proteins (Zeins) from Maize into Three fractions by Differential Solubility. **Plant Physiol.** 80, 623-627, 1986.



FENGWEI, X.; PETER J. H.; LUC A. Rheology to understand and optimize processibility, structures and properties of starch polymeric materials, **Progress in Polymer Science**, v. 37:4, p. 595-623, 2012

FITCH-VARGAS, P. R. et al. Physicochemical and Microstructural Characterization of Corn Starch Edible Films Obtained by a Combination of Extrusion Technology and Casting Technique. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. E2224–E2232, 2016.

GODAVARTI, S.; KARWE, M. V. Determination of specific mechanical energy distribution on a twin-screw extruder. **Journal of Agricultural and Engineering Research**, v. 67, n. 4, p. 277–287, 1997.

GONZALEZ, R. J., DE GREEF, D. M., TORRES, R. L., BORRAS, F. S., & ROBUTTI, J. Effects of endosperm hardness and extrusion temperature on properties of products obtained with grits from two commercial maize cultivars. **LWT-Food Science and Technology**, 37(2), 193-198. 2004.

GUERRERO et al. Extrusion of soy protein with gelatin and sugars at low moisture content, **Journal of Food Engineering**, v.110, n.1 p., p. 53-59, 2012.

GUJRAL, H. S.; SINGH, N.; SINGH, B. Extrusion behaviour of grits from flint and sweet corn. **Food Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 303–308, 2001.

GUZMAN-TELLO, R.; CHEFTEL, J. Colour loss during extrusion cooking of bcarotene-wheat flour mixes as an indicator of the intensity of thermal and oxidative processing. **International Journal of Food Science and Technology**, 25(4), 420e434, 1990.

HAMAKER B.R. et al. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. **Cereal chemistry**, v. 72, n. 6, p. 583–588, 1995.

HARPER J. M. Food Extrusion. J.M. Extrusion of foods, Vol. 1, CRC Press, Boca Raton, FL p. 1-3, 1981.

HARPER, J. M. Effects of extrusion processing on nutrients. In Nutritional Evaluation of Food Processing, 3rd ed., New York, USA: Van Nostrand Reinhold Company. 1988.

HOF, J. Vitamin and mineral retention and sensory evaluation of extruded fortified rice. Theses, Cornell University Library. 2006. <http://hdl.handle.net/1813/3934> (website accessed Set, 2021)

ILO, S.; BERGHOFER, E. Kinetics of colour changes during extrusion cooking of maize grits. **Journal of Food Engineering**, v. 39, n. 1, p. 73–80, 1999.

KAISANGSRI et al. Carrot pomace enhances the expansion and nutritional quality of corn starch extrudates. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 391–399, 2016.

KAUR, N.; SINGH, B.; SHARMA, S. Comparison of quality protein maize (QPM) and normal maize with respect to properties of instant porridge, **LWT**, v. 99, p. 291-298, 2019.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature** **1970 227:5259**, v. 227, n. 5259, p. 680–685, 1970.

LAWTON, J. W. Viscoelasticity of zein-starch doughs. **Cereal chemistry**, v. 69, n. 4, p. 351, 1992.

LENDING, C. R.; LARKINS, B. A. Changes in the zein composition of protein bodies during maize endosperm development. **The Plant Cell**, v. 1, n. 10, p. 1011–1023, 1989.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46 p. 207–219, 2007.

MARTY, C.; BERSET, C. Factors Affecting the Thermal Degradation of all-trans- $\beta$ -Carotene. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 4, p. 1063–1067, 1990.

MILHÃO ALIMENTOS. (<https://milhao.net/industria-alimenticia/grits-de-milho-snack-400/>). Retirado da web, em 07-07-2021.

NATTAPON et al. Carrot pomace enhances the expansion and nutritional quality of corn starch extrudates. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 391–399, 2016.

NOR et al. The Development of Expanded Snack Product Made from Pumpkin Flour-Corn Grits: Effect of Extrusion Conditions and Formulations on Physical Characteristics and Microstructure. **Foods**, v.2, 160-169, 2013.

OLLETT et al. Microstructural changes during the twin-screw extrusion cooking of maize grits, **Carbohydrate Polymers**, v.13, n.1, p. 69-84, 1990.

ORTAK, M. et al. Changes in functional properties and in vitro bioaccessibilities of  $\beta$ -carotene and lutein after extrusion processing. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3543–3551, 2017.

ORTIZ-CRUZ, R. A. et al. Effect of Extrusion Processing Conditions on the Phenolic Compound Content and Antioxidant Capacity of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Bran. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, n. 2, p. 252–257, 2020.

ORTIZ, D. et al. Carotenoid Stability during Dry Milling, Storage, and Extrusion Processing of

Biofortified Maize Genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 18, p. 4683–4691, 2018.

OWUSU-ANSAH, J.; VAN DE VOORT, F. R.; STANLEY, D. W. Textural and Microstructural Changes in Corn Starch as a Function of Extrusion Variables. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, v. 17, n. 2, p. 65–70, 1984.

PAZNOCHT et al. Carotenoid and color changes in traditionally flaked and extruded products. **Food Chemistry**, v. 229, p. 640–645. 2017.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch - Stärke**, v. 62, n. 8, p. 389–420, 2010.

PETER R. SHEWRY; HALFORD, N. G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, n. 370, **Inorganic Nitrogen Assimilation Special Issue**, pp. 947–958, 2002.

PEZZATO, L. E. Use of extruded feed in fish food. In *Advances in Extrusion Technology*, Edited by: Chang, Y. K. and Wang, S. 35–40. Lancaster, USA: Technomic Publishing. 1998.

POMERANZ, Y. *Modern Cereal Science and Technology*. New York. Hardcover. 1987.

RIAZ, M. N.; ASIF, M.; ALI, R. Stability of Vitamins during Extrusion. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 49(4), 361–368, 2009.

ROBUTTI, J. et al. Endosperm properties and extrusion cooking behavior of maize cultivars. **LWT - Food Science and Technology**, v. 35, n. 8, p. 663–669, 2002.

ROSALES, A. et al. Effect of Traditional and Extrusion Nixtamalization on Carotenoid Retention in Tortillas Made from Provitamin A Biofortified Maize (*Zea mays* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 44, p. 8289–8295, 2016.

ROST, T. L.; LERSTEN, N. R. Transfer aleurone cells in *Setaria lutescens* (Graminae). **Protoplasma**, 71: 403–408, 1970.

SCHWEIZER et al. Asp, Influence of drum-drying and twin-screw extrusion cooking on wheat carbohydrates, II, effect of lipids on physical properties, degradation and complex formation of starch in wheat flour, **Journal of Cereal Science**, v. 4, n., 3, p. 249–260. 1986.

SHAHNOOR et al. Bioengineering affects cereal grain germination and seedling establishment. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 9, p. 2257–2270, 2014.

SHAIK et al. Starch bioengineering affects cereal grain germination and seedling establishment. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 9, p. 2257–2270, 2014.

SHEWRY, P. R. Improving the protein content and composition of cereal grain. **Journal of Cereal Science**, 46, 239–250, 2007.

SHUJUN et al. New insights on the mechanism of acid degradation of pea starch. **Carbohydrate Polimers**, 87, p. 1941-1949, 2012.

STANLEY D. W.; DEMAN J. M. Structural and mechanical properties of textured proteins. **Journal Texture Studies**, v. 9, p. 59, 1978.

STEEL et al. Thermoplastic Extrusion in Food Processing. Capítulo 13. In: Thermoplastic Elastomers. Ed. Adel El-Sonbati. IntechOpen Book Series, 2012.

VARGAS-SOLÓRZANO, J. W. **Desenvolvimento de extrudados expandidos à base de cereais integrais**. Departamento de Tecnologia de Alimentos [Tese de doutorado]. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2019.

WANG, S.; COPELAND, L. Molecular disassembly of starch granules during gelatinization and its effect on starch digestibility: a review. **Food & Function**, v. 4, n. 11, p. 1564–1580, 2013.

WONG, J. H. et al. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm. **Journal of Cereal Science**, v. 49, n. 1, p. 73–82, 2009.

XIE, F.; HALLEY, L. Avereous Rheology to understand and optimize processability, structures and properties of starch polymeric materials, **Progress in Polymer Science**, 37, pp. 595-623, 2012.

XU et al. Morphological characteristics of endosperm in different regions of maize kernels with different vitreousness, **Journal of Cereal Science**, V.87, p. 273-279, 2019.

XUA et al. Morphological characteristics of endosperm in different regions of maize kernels with different vitreousness. **Journal of Cereal Science**, 87 p.273-279, 2019.

YANNIOTIS, S. ; PETRAKI, A.; SOUMPASI, E. Effect of pectin and wheat fibers on quality attributes of extruded cornstarch, **Journal of Food Engineering**, v.80, n. 2, p. 594-599, 2007.

YU, L.; CHRISTIE, G. Microstructure and mechanical properties of orientated thermoplastic starches. **Journal of Materials Science**, v. 40, p.111–116, 2005.

ZACHARIUS, R. M. et al. Glycoprotein staining following electrophoresis on acrylamide gels. **Analytical biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 148–152, 1969.

ZHANG, H.; GAO, R.; DONG, S. Anatomical and Physiological Characteristics Associated with Corn Endosperm Texture. **Agronomy Journal**, 103(4), 1258, 2011.

ZHANG, W.; HOSENEY, R. C. Factors Affecting Expansion of Corn Meals with Poor and Good Expansion Properties. **Cereal Chemistry**. 75(5):639-643, 1998.

ZHANG, Y.; REMPEL, C.; LIU, L. Thermoplastic Starch Processing and Characteristics—A. Review, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 54:10, 1353-1370, 2014.

## **CAPÍTULO II**

**EFEITO DA UMIDADE E TEMPERATURA SOBRE A  
MICROESTRUTURA DE EXPANDIDOS DE *GRITS* DE MILHO**

**EFFECT OF MOISTURE AND TEMPERATURE ON THE  
MICROSTRUCTURE OF CORN GRITS EXPANDED**

## **Effect of moisture and temperature on the microstructure of corn grits expanded**

José Arturo Romero Rodríguez <sup>1</sup>, José Luis Ramírez Ascheri <sup>2</sup>, Artur Jorge da Silva Lopes <sup>3</sup>,  
Carolina Mellinger Silva <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, km 7, Seropédica, RJ CEP 23890-000, Brazil

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Food Extrusion and Physical Properties Lab, Avenida das Américas 29501, Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ CEP 23020-470, Brazil

<sup>3</sup> Institute of Exact Sciences, Department of Physics, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, km 7, Seropédica, RJ CEP 23890-000, Brazil

<sup>4</sup> Embrapa Food Technology, Biochemistry Lab, Avenida das Américas 29501, Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ CEP 23020-470, Brazil

### **ABSTRACT**

The objective of this chapter was to verify the effect of moisture and temperature on the microstructure of expanded corn grits. Normal corn grits were processed at 15, 18 and 21% moisture at temperatures ranging from 120, 140, and 160 °C, following a 3<sup>2</sup> factorial experimental design, with two replicates; using a single screw Brabender extruder of 5:1 compression ratio, 3mm diameter die, 14.3 mm long; 150 rpm screw speed and 17 rpm feed speed. Sectional, longitudinal, volumetric expansion index and water absorption index were analyzed. Then the raw and processed samples were submitted to optical microscopy and scanning electron microscopy and electrophoresis analyses. The results showed that moisture had a greater impact on the physical and microstructural properties of grits expanded. At 15%, they had higher expansion values. Regarding water absorption, it was higher at 18% and 120 °C of temperature. It was observed in the SEM and electrophoresis results that there was a decrease in the size/weight of the protein component. Thus, the work concludes that lower processing moisture (> 15%) and high temperatures < 160 °C cause higher shear rates and mechanical effort, deeply transforming the starch-protein complex.

**Keywords:** thermoplastic extrusion, physical properties, microstructure, electrophoresis, zeins.

## RESUMO

O objetivo deste capítulo foi verificar efeito da umidade e temperatura sobre a microestrutura de expandidos de *grits* de milho. O *grits* de milho normal foi processado a 15, 18 e 21% de umidade a temperaturas que variaram de 120, 140 e 160 °C, seguindo um desenho experimental fatorial 3<sup>2</sup>, com duas repetições; utilizando uma extrusora Brabender de parafuso único de taxa de compressão de 5:1, matriz de 3mm de diâmetro, 14,3 mm de comprimento; velocidade do parafuso de 150 rpm e 17 rpm de velocidade de alimentação. Foram analisados índice de expansão seccional, longitudinal, volumétrica e índice de absorção de água. Logo as amostras cruas e processadas forma submetidas a análises de microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura e eletroforese. Os resultados mostraram que a umidade teve maior impacto sobre as propriedades físicas e microestruturais, dos expandidos de *grits*. Sendo que a 15%, apresentaram maiores valores de expansão. Com relação à absorção de água foi maior a 18% e 120 °C de temperatura. Foi observado nos resultados de MEV e eletroforese que houve diminuição do tamanho/peso do componente proteico. Desta forma o trabalho conclui que menores umidade de processamento (> 15%) e altas temperaturas < 160 °C provocam maiores taxas de cisalhamento e esforço mecânico transformando profundamente o complexo amido-proteína.

**Palavras-chave:** extrusão termoplástica, propriedades físicas, microestrutura, eletroforese, zeínas.



## 2.1 INTRODUÇÃO

O processo de extrusão é uma técnica de processamento térmico de alta taxa de cisalhamento, que envolve a interação entre características morfológicas da matéria prima, teor de umidade e composição química, bem como parâmetros de processamento, incluindo temperatura, velocidade da rosca, taxa de alimentação e configuração da rosca, entre outras (SHAIK et al., 2014). A umidade da matéria prima, particularmente, influencia o grau de cozimento e cisalhamento experimentado pelos componentes do material, principalmente o amido, que tem grande impacto no volume de expansão (THYMI et al., 2005). Conforme experiências descritas na literatura, a umidade, temperatura e a velocidade da rosca são os parâmetros de extrusão mais comumente estudados e facilmente variados, com impacto significativo nas mudanças físicas e químicas dos materiais submetidos ao processo de extrusão. O objetivo deste capítulo foi estudar os impactos dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas do expandidos de *grits* de milho.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Matéria prima e composição proximal

O *grits* de milho normal (*Zea mays* L.) foram obtidos pela empresa Granfino (Nova Iguaçu, RJ, Brasil). A distribuição do tamanho de partículas classificada como 300 µm, pelo fabricante. A composição centesimal dos *grits* e extrudados mostrados na **Tabela 2.1** foi realizada usando os métodos padronizados da AOAC (2005). A umidade foi determinada pelo método 925.09, teor de lipídios pelo método 945.38, nitrogênio total pelo método 2001.11, teor de cinzas pelo método 923.03 e teor de fibra bruta pelo método 978.10.

### 2.2.2 Processo de extrusão

Foi utilizada uma extrusora de parafuso único (Brabender 19/20 DN, Duisburg, Alemanha). Parafuso único, de taxa de compressão 5:1. Na última zona da extrusora foi colocada uma matriz de haste horizontal de 3 mm de diâmetro e 14,3 mm de comprimento aquecida eletricamente. O perfil de temperatura das duas primeiras foram de 50 e 100 °C, respectivamente, e a última zona teve as variações segundo o desenho experimental, em três níveis (120, 140 e 160 °C). A velocidade da rosca do alimentador e da extrusora foram fixadas em 17 e 150 rpm, respectivamente. Porções de aproximadamente 600 g de *grits* de milho em cada ensaio foram umedecidos em três níveis (15, 18 e 21%) calculados segundo a equação (1), de acordo com VARGAS-SOLÓRZANO et al. (2020).

$$W = G \times \left( \frac{M_f - M_g}{100 - M_f} \right) \quad (1)$$

Onde  $W$  é a quantidade de água a ser adicionada,  $G$  é a massa de *grits* a ser umedecida e  $M_g$  corresponde a umidade inicial do *grits*, determinada em duplicata em forno a 130 °C por 1 h segundo FAN et al. (1996).  $M_f$ , corresponde à umidade da alimentação, fixada de acordo com os níveis descritos no planejamento experimental (**Tabela 2.2**). A mistura de *grits* com a água foi feita manualmente em sacos plásticos de alta densidade. A mistura foi agitada vigorosamente de forma circular para facilitar a difusão uniforme da água e redução da formação de aglomerados. O *grits* umedecido foi armazenado por 12 h a 4 °C, até o início do processo. O planejamento experimental foi executado de forma aleatória, de tal forma que os tratamentos foram processados sim considerar a ordem descrito na **Tabela 2.2**. A temperatura em cada zona, a velocidade da rosca da extrusora e o torque foram registrados e monitorados com o Software da extrusora Brabender para Windows WINEXT, versão 4.4.0 (Brabender, Duisburg, Alemanha). O resfriamento, das zonas extrusoras foi feito manualmente com ar comprimido, quando requerido. Os ensaios de extrusão foram realizados em dias diferentes para cada temperatura na última zona, para garantir melhor controle da operação no processo e seu efeito nas variáveis de resposta. No início de cada dia de processo, a extrusora era estabilizada com a utilização de *grits* de milho (300 µm) umedecidos com água potável (aprox.

20% base úmida) de acordo com o perfil de temperatura de cada tratamento, segundo o desenho experimental e os testes foram realizados por duplicata. Os extrudados expandidos foram coletados manualmente em bandejas de plástico (60 cm × 30 cm × 10 cm) colocadas abaixo da extrusora de molde. Durante a coleta dos extrudados, eles foram cortados em segmentos de cerca de 40 cm e armazenados em temperatura ambiente.

### 2.2.3 Determinação do fluxo de massa de extrusão

A vazão do fluxo de massa de extrusão é a quantidade de massa (g) fundida e cozida de uma amostra de *grits* de milho que sai da matriz da extrusora em determinado tempo (30s). A qual que faz parte do cálculo da energia mecânica específica, segundo descrito por ALVAREZ-MARTINEZ et al. (1988) com modificações (ANEXO A). O torque (Nm) registrado no momento da extrusão permite a medida da potência do motor da extrusora (AHMED, 1999).

### 2.2.4 Energia mecânica específica (EME)

A energia mecânica específica (*EME*), foi determinada segundo a metodologia descrita por ALVAREZ-MARTINEZ et al. (1988). *EME* foi calculada utilizando a equação (2)

$$EME = \frac{T(2\pi VP)n}{m_e} \quad (2)$$

Onde *T* é o torque (Nm) registrado no momento da coleta. *VP* é a velocidade do parafuso que foi mantida constante a 150 rpm, *n* é o número de parafusos (para uma extrusora de parafuso único, *n* = 1) *m<sub>e</sub>* a taxa de fluxo mássico (vazão) do extrudado, foi determinada em duplicata, pela coleta de uma quantidade de extrudado durante 30 s. No início de cada processo, a extrusora era estabilizada com a utilização de *grits* de milho (300 µm) umedecidos com água potável (aprox. 20% em base úmida) de acordo com o perfil de temperatura de cada tratamento.

### 2.2.5 Índice de absorção em água (IAA)

Os extrudados secos foram pressionados manualmente entre as sacolas de armazenamento com o propósito de reduzir o tamanho e facilitar sua moagem no moinho de facas e martelos 7,5 CV (TREU, Brasil) com uma peneira acoplada de 0,8 mm de abertura, e a farinha obtida foi novamente peneirada com o uso de RO-TAP modelo RX-29-10 (W.S. Tyler, St. Albans, WV, USA) utilizando somente a fração que passou a peneira de 212 µm e retida na peneira de 106 µm. As farinhas foram armazenadas em frascos de vidro com dupla tampa e armazenadas a 4 °C até posterior uso na determinação de absorção e solubilidade em água.

*IAA* foi determinada segundo a metodologia descrita por ANDERSON et al. (1969), adaptada quanto à forma de agitação. Em um tubo de centrífuga previamente tarado foram colocados 1,0 g da farinha e 10 mL de água destilada a 28 °C. Os tubos foram deixados em repouso durante 30 minutos, logo submetidos a agitação de 10 s no agitador tipo vórtex (Genie 2 Scientific Industries, Bohemia, NY, USA). Estes foram então centrifugados a 9000 rpm

durante 15 minutos, em centrífuga Universal 320R (Hettich, Tuttingen, Alemanha). Verteu-se cuidadosamente o líquido sobrenadante em placa de Petri. Após, o gel remanescente junto ao tubo foi pesado. O *IAA* foi calculado utilizando a equação (3), e é expresso em g de gel. g de matéria seca<sup>-1</sup>.

$$IAA = \frac{PRC}{(PA - PRE)} \quad (3)$$

Onde *PRC* é o peso do resíduo da centrifugação, em g; *PA* é o peso da amostra, em g, e *PRE* é o peso do resíduo da evaporação, em g.

### 2.2.6 Densidade aparente e propriedades de expansão

A densidade aparente (*DA*), em kg/m<sup>3</sup>, foi calculada de acordo com FAN et al. (1996) segundo equação (4):

$$DA = \frac{4M}{\pi D^2 L} \quad (4)$$

Onde *M* é a massa em g de um comprimento, *L* longitude em m, de um extrudado de diâmetro *D*, em m.

A expansão da massa fundida está relacionada ao grau de porosidade no produto extrudado, a qual afeta as propriedades mecânicas e de transporte tais como taxa de cisalhamento e difusão de aromas (WŁODARCZYK-STASIAK e JAMROZ, 2009). Os índices de expansão, seccional, longitudinal e volumétrico foram determinados segundo descrito por ALVAREZ-MARTINEZ et al. (1988). O Índice de expansão Seccional (*IES*), foi calculado utilizando a equação (5).

$$IES = \left(\frac{D_e}{D_d}\right)^2 \quad (5)$$

O Índice de expansão longitudinal (*IEL*), foi determinado de acordo com a equação (6).

$$IEL = \left(\frac{P_f}{\rho_e}\right) \times \left(\frac{1}{IES}\right) \times \left(\frac{1 - M_d}{1 - M_e}\right) \quad (6)$$

Para a determinação do índice de expansão volumétrico (*IEV*), foram utilizados 15 segmentos do material extrudado em cada ensaio. Os segmentos de extrudados de aproximadamente 10 cm de comprimento cada foram colocados em sacolas plásticas de alta densidade, fechadas e acondicionadas em caixa de plástico rígido com tampa e armazenadas em lugar limpo, seco e ventilado até o início da determinação. O *IEV* foi medido de acordo com a equação (7).

$$IEV = \left( \frac{\rho_m}{\rho_e} \right) \times \left( \frac{100 - M_m}{100 - M_e} \right) \quad (7)$$

Onde  $\rho_m$  e  $\rho_e$  são as densidades (base úmida) do fundido e extrudado, e  $M_m$  e  $M_e$  são a umidade (base seca) da massa fundida e extrudado, respectivamente.  $P_m$  foi considerada como a densidade do sólido do material de alimentação, medido em duplicata usando um picnómetro a gás AccuPye II 13400 (Micromeritics, Norcross, USA), usando hélio como médio desplazante.  $P_e$  foi medido considerando o volume do extrudado como um cilindro de aproximadamente 10 cm de comprimento (FAN et al. 1996).  $M_m$  foi considerado como a umidade de alimentação e  $M_e$  umidade do extrudado e foi medido em duplicata de acordo com a AACC (1983).

### 2.2.7 Características microestruturais

Para o estudo da morfologia do grão de milho e microestrutura do extrudados foram utilizados o estereoscópio (Discovery V -12 - Zeiss) acoplado a Axio Cam fotográfico (IC 1, Zeiss), e a visualização através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) TM3000 (Hitachi High Technologies Corporation, Tóquio, Japão) com aceleração de 30,05 kV.

Para visualizar com maior amplitude a microestrutura do *grits* e extrudados, foi utilizado o acelerador de fluxo de 5 kV a 15 kV. As amostras do *grits* e extrudados (106  $\mu\text{m}$ ) foram padronizadas para 7% ( $\pm 0,05$ ) de umidade, acondicionadas em potes de vidro opaco com tampas internas de plástico e metálicas externas, com capacidade de 20 g e armazenadas em local seco, arejado e escuro. As amostras a serem analisada foram colocadas manualmente com espátula plástica sobre a fita adesiva do porta-a mostras do microscópio, tentando cobrir completamente a superfície com a menor espessura de camada. Estas foram inicialmente observadas a 100x, a fim de identificar os diferentes tecidos do *grits* de milho apresentados com o estereoscópio. Da mesma forma, procedeu-se com as amostras expandidas para identificar a estrutura externa do *grits* de milho e as modificações estruturais ocasionadas pelo processo de extrusão durante o cozimento. Inicialmente, foi feito uma varredura em toda a superfície da amostra, tentando identificar possíveis modificações estruturais do amido e das proteínas ou restos de tecido. Uma vez identificada qualquer alteração estrutural de interesse, a observação foi realizada com diferentes aumentos, o que poderia facilitar a interpretação dos resultados devido ao efeito da extrusão por cozimento nas condições do presente estudo.

### 2.2.8 Utilização da eletroforese na identificação e modificação das zeínas de *grits* de milho e extrudado

A metodologia utilizada para identificação das zeínas por eletroforese, foi a adotada do LAEMMLI (1970), com as modificações descritas pelo Procedimento Operacional Padrão, adotado pela Embrapa Agroindústria de Alimentos: Análise de proteínas por eletroforese em gel de poliácridamida na presença de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE).

Preparo da solução para extração de zeínas (para 2 amostras) – Solução de extração (1):

Ureia (6M) – 3,6 g

SDS (2%) – 0,2 g

TRIS pH 8.0 (0,01 M) – 10 mL (solução 1:10 (v/v) TRIS-HCl (0,1 M) em água destilada)

Cálculos:

Ureia (6M): 60,06 g – 1M – 1L

0,60 1M – 0,01L

3,6 g - 6M – 0,01L

SDS (2%): 2,0 g – 100 mL

0,2 g – 10 mL

TRIS-HCl (0,1 M) pH 8,0: 121,14 g – 1M - 1L

12,1 g – 0,1M – 1L

0,121 g – 0,1M – 0,01L

12,1 g – 0,1M – 10mL

Procedimento.- Pesou-se 0,1 g de amostra (farinha de *grits* de milho e extrudados, 106 µm) em microtubo (Eppendorf); solubilizado em 1,5 mL da solução de extração (Solução 1); agitou-se no Vórtex por 3 h; centrifugou-se a 10.000 rpm por 30 min; congelou-se até o dia seguinte; descongelou-se e centrifugou-se novamente a 10000 rpm por 30 min; retirou-se o sobrenadante e transferiu-se para outro microtubo (Eppendorf); coletou-se 40 µL do sobrenadante que foi transferido para outro microtubo (Eppendorf); adicionou-se 20 µL da solução tampão de amostra conforme descrito POP BQA 001, *Análise de proteínas por Eletroforese em gel*; e agitou-se manualmente e manteve congelado até realização da corrida por eletroforese.

Eletroforese em gel de poliacrilamida em dodecilsulfato de sódio (SDAGE): para esta análise da corrida de eletroforese em primeira dimensão seguiu-se os procedimentos no POP BQA 001, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Guaratiba RJ, Brasil, com algumas modificações.

Colorações de géis SDS-PAGE para carboidratos: fucsina-sulfito

- Solução de ácido tricloroacético (siglas em inglês: TCA), 12,5% (m/v) (Solução 1); em uma proveta adicionou-se 70 mL de água destilada; adicionou-se 12,5 g de TCA; solubilizou-se a solução com auxílio de bastão de vidro e adicionou-se 100 mL de água destilada.

- Solução de ácido periódico (1%) em ácido acético (3%), (Solução 2): Em uma proveta adicionou-se 3 mL de ácido acético em 90 mL de água destilada; adicionou-se 1 g de ácido periódico e avolumou-se para 100 mL; solubilizou-se manualmente com auxílio de bastão de vidro.

- Solução de metabisulfito de sódio 0,5% (m/v), (Solução 3)

Em 40 mL de água destilada, dissolveu-se 0,25 g de metabisulfito de sódio; b) após a solubilização adicionou-se 1,5 g de tiosulfato de sódio; c) avolumou-se para 50 mL; d) na hora do uso, adicionou-se 50 mL; c) lavou-se uma vez a cada 30 min por três vezes.

- Solução de fucsina-sulfito (Solução 4)

Em 70 mL de água destilada, adicionou-se 0,5 g de metabisulfito de sódio e 1 mL de ácido clorídrico (HCL) (PA), solubilizou-se no Becker em agitação; transferiu-se o conteúdo

para uma proveta graduada e avolumou-se para 100 mL; transferiu-se a solução para um Becker coberto com papel alumínio; adicionou-se 0,4 g de fucsina básica e manteve em agitação por 2 h em capela; e, armazenou-se a solução em vidro âmbar e em local ao abrigo de luz.

Procedimento.- Para fixação das proteínas, transferiu-se os géis para uma cuba e adicionou-se 50 mL da solução de TCA 12,5% (m/v) (Solução 1); manteve-se os géis em agitação por 30 min na capela; retirou-se a solução de TCA e lavou-se os géis com água destilada; mergulhou-se os géis na solução de ácido periódico (Solução 2) com ácido acético (Solução 1) por 50 min em agitação na capela; lavou-se cada gel com 50 mL de água a cada 10 min por 6 vezes; mergulhou-se os géis em solução fucsina-sulfito (Solução 4) por 50 min em agitação na capela; lavou-se com solução de metabisulfito de sódio (Solução 3) por 50 min, com intervalo de 10 min, por três vezes seguidas.

### 2.2.9 Planejamento experimental e análise estatística

Um planejamento fatorial  $3^2$  com duas repetições foi usado. As variáveis independentes (fatores) foram umidade de extrusão (*UE*) e temperatura do barril na última zona (*TB*). Os níveis para *UE* foram 15, 18 e 21% (base úmida) e para *TB* foram 120, 140 e 160 ° C. As respostas avaliadas foram: Vazão, *EME*, *IAA*, *DA*, *IES*, *IEL* e *IEV* (**Tabela 2.1**). Como o design possui três níveis e ambos os fatores são quantitativos, um modelo quadrático com interações (equação 8) foi testado para interpretar o comportamento de cada resposta em termos das variáveis independentes estudadas.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 UE + \beta_{11} UE^2 + \beta_2 TB + \beta_{22} TB^2 + \beta_{12} UETB + \beta_{122} UETB^2 + \beta_{112} UE^2 TB + \beta_{1122} UE^2 TB^2 \quad (8)$$

Onde *Y* é a resposta prevista (*Vazão*, *EME*, *IAA*, *DA*, *IES*, *IEL*, *IEV*),  $\beta_1$  os coeficientes da equação e os fatores em níveis codificados: *UE* e *TB* os efeitos principais,  $(UE)^2$  e  $(TB)^2$  os efeitos quadráticos e as combinações lineares e quadráticas e os efeitos de interação. A significância estatística de cada termo da equação (8) foi determinada por análise de regressão a 5% e 1% para os coeficientes, com o software STATISTICA versão 12.0 (StatSoft, Tulsa, EUA). Gráficos de superfície de resposta foram gerados para os modelos ajustados com  $R^2 > 0,70$  (MONTGOMERY, 2013). Todas as correlações cruzadas entre as respostas das propriedades físicas também foram avaliadas. Os níveis de *UE* e *TB* que maximizam ou minimizam uma resposta e sua correspondente resposta prevista, foram obtidos pelo método *Generalized Reduced Gradient* (GRG) não linear fornecido no suplemento Solver do Microsoft Excel.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Material de alimentação e composição centesimal

Os resultados da composição centesimal do *grits* de milho utilizado antes e depois do processamento encontra-se na **Tabela 2.1**. Não houve grandes diferenças quantos aos teores de proteína, lipídios, cinzas e fibra bruta.

**Tabela 2.1.** Composição centesimal de *grits* de milho antes e depois do processamento por extrusão.

Material	Proteína <sup>a</sup> (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)	Fibra bruta (%)	Carboidratos <sup>b</sup> (%)
<i>Grits</i> cru*	4,96 ± 0,12	0,78 ± 0,13	0,36 ± 0,18	0,38 ± 0,08	93,52 ± 0,07
Extrudado	4,96 ± 0,22	0,57 ± 0,11	0,47 ± 0,21	0,47 ± 0,16	93,53 ± 0,02

<sup>a</sup> fator de conversão (nitrogênio total × 5,75); <sup>b</sup> por diferença. \*Considera-se como *grits*, ao grão de milho degerminado, descascado, conhecido também como canjica, ao qual foi submetido à moagem a seco, dando resultado partículas de diferentes proporções granulométricas.

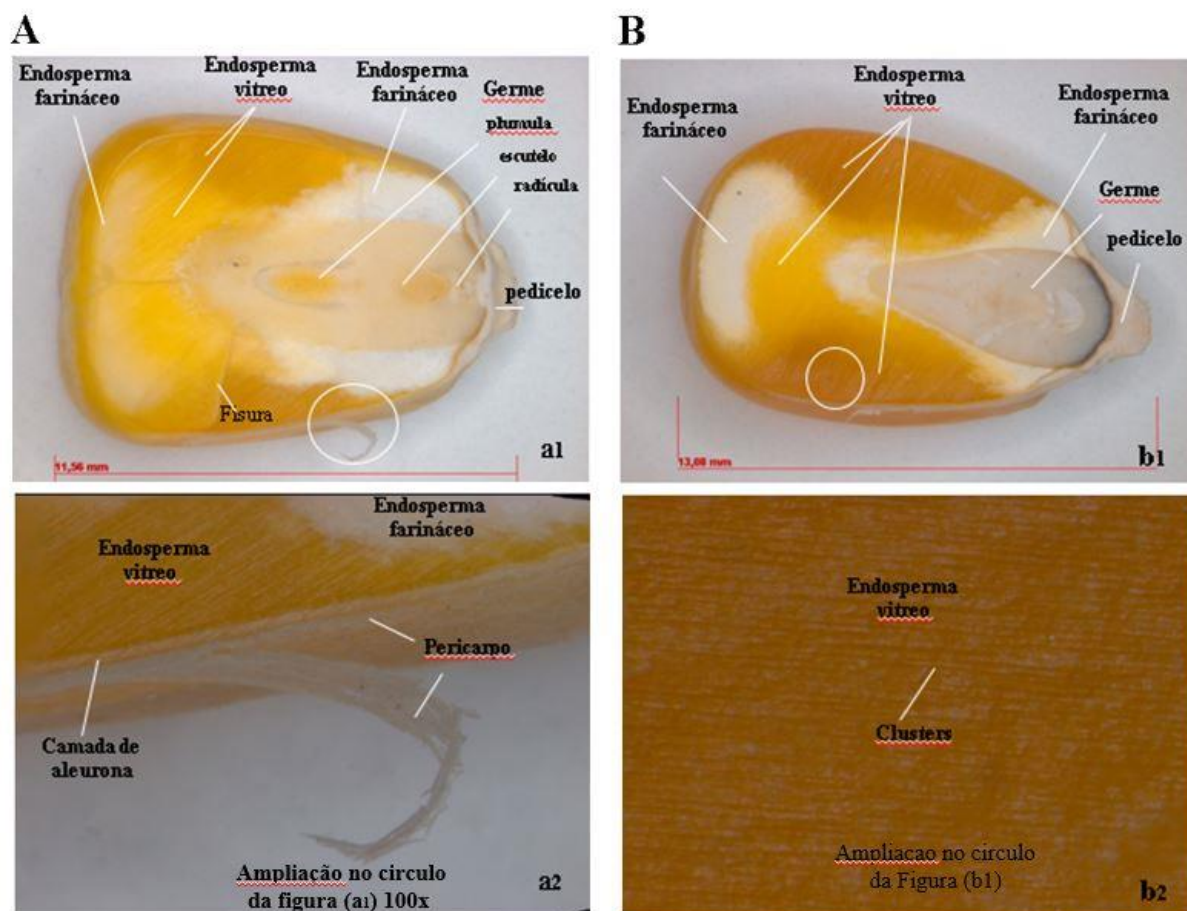
Esta tendência coincide com os valores reportados por MARTINEZ et al. (1996) com amostras de *snacks* de milho extrudado de alta qualidade proteica e vários híbridos de milho normal. No entanto, mostra tendência diferente nos resultados da proteína do milho duro relatada por ROBUTTI et al. (2002), cujos autores não indicaram uma interpretação conclusiva. Cabe mencionar, que por feito do processamento por extrusão, há perdas nos valores de proteína (CAMIRE et al., 1991) em cerca de 25-30%, segundo seja a percentagem de umidade de processamento, ou de altas taxas de cisalhamento e tipo de matéria prima. Da mesma forma os lipídios, apresentam uma determinada redução, que acontece durante a dissipação do calor na saída da matriz do sistema de extrusão, por consequência da diferença de pressão, entre o sistema adiabático do barril e o ambiente externo.

### 2.3.2 Morfologia do grão de milho

A **Figura 2.1** mostra a imagem estereoscópica sobre a morfologia de dois grãos de milho, dentado e duros, utilizados comercialmente no processamento de *grits*. Em diferentes aumentos. Referente à micrografia (**a2**), semelhante resultado foi observado (GARCIA-LARA et al. 2019; XU et al. 2019). Na micrografia (**b2**), verificasse-se a formação de sulcos paralelos que provavelmente sejam as cadeias da estrutura da formação granular do amido na forma de clusters. Que quando observado em maiores detalhes, verificamos que com a micrografia (**b2**) os sulcos em paralelo têm menor espaço entre elas, do que das amostras (**a2**).

A proporcionalidade de partes vítreas e farináceas está sujeita às variedades, condições edafológicas, climáticas, graus de fertilização, fisiológicas do grão na época da colheita e tratamentos pós-colheita. (GUJRAL; SINGH; SINGH, 2001).





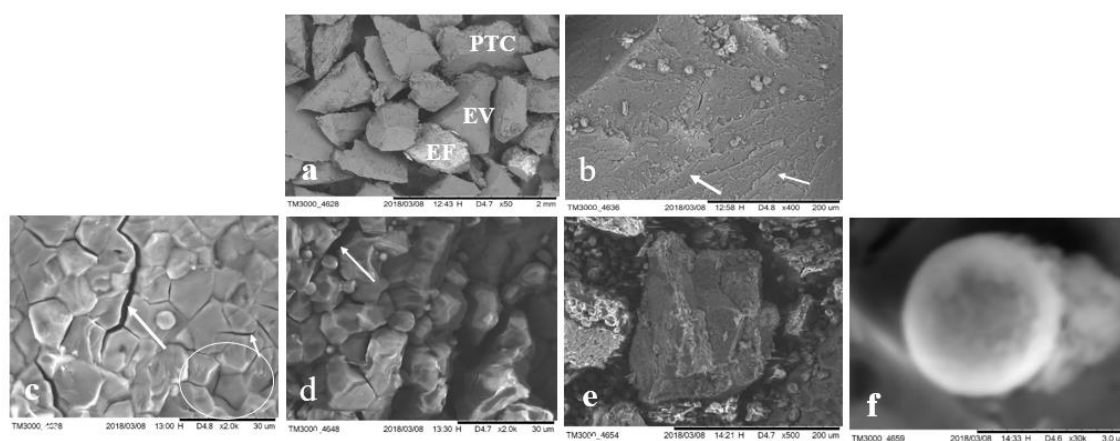
**Figura 2.1** Imagens estereoscópica da morfologia de dois tipos de grãos de milho dentado (**A**) e duro (Flint) (**B**), mostrando as superfícies após o corte longitudinal (pela metade), utilizados no processamento de *grits*. Grão de milho dentado (**a1**) 8.7x onde podem ser observados os principais tecidos: endospermas vítreo e farináceo, germe composto por: plúmula, escutelo, pericarpo e pedicelo. A imagem (**a2**) corresponde à ampliação indicada no círculo da **Figura 2.1 (a1)**, permite visualizar tecidos de milho a 100x de amplitude. Milho duro (**b1**) (Flint) 8.0x indicando as partes vítreas e farináceos e (**b2**) mostra o endosperma vítreo observado no círculo de (**b1**) a 100x.

Algumas fraturas presentes no endosperma vítreo (indicadas pela seta, da micrografia. (**a1**) podem ser próprias do processo de crescimento e desenvolvimento do endospermo, como descrito por Xu (2019), causadas pela escamação do grão como mostrado na micrografia (**a2**), o que pode influenciar na qualidade dos grãos. Também, XU et al. (2019), relataram a forma e o tamanho do amido os grânulos não determinaram diretamente a textura do endosperma vítreo e farináceo. A proteína de armazenamento teria sido distribuída regionalmente no endosperma, e seu conteúdo e distribuição espacial foram relacionados com o endosperma vítreo. Dentro do círculo -ampliações na micrografia (**a1**) observa-se uma distribuição horizontal organizada (**b1**) característico de endospermas vítreos.

### 2.3.3 Microestrutura de *grits* de milho

A dureza e textura do *grits* influencia notavelmente na microestrutura dos produtos extrudados tipo *snacks* outorgando características peculiares (PEREIRA et al., 2008; ROBUTTI; HOSENEY; WASSON, 1974).

Na **Figura 2.2** foi realizada com o intuito de verificar, na medida do possível, como estão configuradas as estruturas do *grits* em relação com seus componentes. Visto que a distribuição da parte proteica, principalmente zeínas, estão muito mais presentes nas partes vítreas do grão. Da mesma forma a parte amilácea e sua distribuição no complexo estrutural. Na micrografia MEV (**Figura 2.2a**), a 50x, mostra-se uma parte do endosperma vítreo (*EV*), com maior evidência no seu formato e cor, já o endosperma farináceo (*EF*), aparece numa cor mais esbranquiçada, o que implica maiores teores frações amiláceas. Uma outra parte observada se refere a uma partícula em possível processo de transformação por calor (*PTC*) durante a moagem (**Figura 2.2b**). Percebe-se, a porção colocada no MEV, só da parte vítrea, e ampliada a 400x, mostrando sulcos, que poderiam ser as paredes celulares, e possíveis divisões na formação dos canais ou pacotes amiláceos. Essa mesma área, porém, ampliada a 2 kV, (**Figura 2.2c**) permite verificar os formatos poliédricos dos grânulos de amido compactos. Também se observa umas rachaduras, que podem ser consequência do manejo pós-colheita, ou impactos durante a moagem na fabricação do *grits*. Com o mesmo material a 2 kV (**Figura 2.2d**) pode ser verificado possíveis corpos proteicos, e um ângulo diferente das fissuras ou rachaduras. Na **Figura 2.2e** parece não mostrar uma organização estrutural, visto que possivelmente seja uma fração muito cerca de áreas farináceas, ou também pode ser por efeito do processamento de moagem a seco. Por outro lado, na micrografia (**Figura 2.2f**), observa-se a 500x um bloque endosperma amiláceos da parte vítrea, com formato de cadeira, como observado por ROBUTTI et al. (1974). Na micrografia (**Figura 2.2f**), a 30kV, acredita-se seja, pelo formato arredondado, um corpo proteico.



**Figura 2.2.** Micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de *grits* de milho maduro cru: (a) imagem panorâmica de diferentes frações de endosperma vítreo (*EV*), endosperma farináceo (*EF*) e partícula em possível cédula de EV em processo de transformação por calor (*PTC*) 400 x; (b) imagem ampliada 400 x células da parte do (*EV*) da imagem (a) e possíveis anéis de crescimento indicando com flechas 400 x; (c) fração de célula de amilácea que contém grânulos de amido e fraturas, 2 kV; (d) célula de amido em processo de

desintegração onde pode-se apreciar fratura indicada pela flecha, grânulos de amido compactos, corpos proteicos arredondados e cor branco. Mesmo assim, vestígios de superfície convexo pela perda de corpos proteicos de zeína 2 kV; (e) Resto de célula de (EV) em forma de cadeira, com grânulos de amido compactos, vestígios de anéis de crescimento e canais, 500 x e (f) possível corpo proteico 30 kV.

### 2.3.4 Planejamento experimental e respostas das variáveis

Na **Tabela 2.2** são apresentados no planejamento experimental e respostas (valores médios) do efeito das variáveis de extrusão sobre as propriedades físicas de extrusados de *grits* de milho.

**Tabela 2.2.** Planejamento experimental e respostas do efeito das variáveis de extrusão sobre as propriedades físicas de extrusados de *grits* de milho.

Ensaio n°	Planejamento experimental <sup>1</sup>		Variáveis de extrusão		Propriedades físicas				
	<i>UE</i> %	<i>TB</i> °C	<i>Vazão</i> kg/h	<i>EME</i> kJ/kg	<i>WAI</i> g água/g	<i>DA</i> kg/m <sup>3</sup>	<i>SEI</i>	<i>LEI</i>	<i>VEI</i>
1	15	120	5.94	793.02	4.8794	142.94	17.23	0.52	9.00
2	18	120	5.95	672.99	5.4779	230.03	12.02	0.45	5.40
3	21	120	6.54	503.99	5.3389	323.37	7.47	0.50	3.71
4	15	140	5.59	790.71	4.9877	122.03	16.23	0.65	10.51
5	18	140	6.04	609.29	5.4199	222.58	11.44	0.49	5.59
6	21	140	6.67	533.96	5.4321	379.12	6.16	0.51	3.16
7	15	160	6.10	745.75	5.0437	119.66	16.36	0.66	10.75
8	18	160	6.22	595.53	5.0989	260.16	8.08	0.59	4.78
9	21	160	6.83	447.56	5.2213	379.09	5.66	0.56	3.15
10	15	120	5.64	833.93	4.6671	145.31	17.30	0.51	8.85
11	18	120	5.71	682.53	5.7190	238.08	11.32	0.46	5.21
12	21	120	6.20	528.26	5.4349	370.78	7.23	0.45	3.24
13	15	140	5.78	787.60	5.1870	132.31	16.47	0.59	9.72
14	18	140	5.82	679.38	5.6848	238.44	11.12	0.49	5.40
15	21	140	6.29	501.11	5.1439	370.77	6.81	0.48	3.25
16	15	160	6.05	743.47	5.0782	135.13	17.07	0.56	9.52
17	18	160	6.30	596.79	5.3427	217.46	9.90	0.58	5.72
18	21	160	7.12	518.79	5.3480	307.37	6.81	0.57	3.90

<sup>1</sup> Duas réplicas genuínas. *UE*: umidade de extrusão; *TB*: temperatura do barril; *EME*: energia mecânica específica; *DA*: densidade aparente dos extrusados; *IES*: índice de expansão seccional; *IEL*: índice de expansão longitudinal; *IEV*: índice de expansão volumétrica; *IAA*: índice de absorção de água.

A partir da análise de regressão (**Tabela 2.3**), os coeficientes de regressão para as variáveis de extrusão linear,  $\beta_i$  foram positivos para *Vazão* do extrudado (*VE*) e negativos para *EME* com ( $p < 0,01$ ), respectivamente. Igualmente,  $\beta_{11}$  foi significativo para (*VE*) com ( $p < 0,05$ ). (*VE*)  $\beta_2$ , foi positivo e *EME* negativo com ( $p < 0,01$ ), respectivamente. Esses dois comportamentos podem ser observados na **Figura 2.3a** de superfície de resposta, onde o efeito do *UE* e *TB* no comportamento do (*VE*) é apreciado, quanto maior o *UE* e *TB*, respectivamente, se obteve a maior (*VE*) e vice-versa. Esse comportamento pode ser interpretado pelo efeito plastificante da água, favorecido por altas temperaturas, forças de cisalhamento e pressão. Além

disso, *UE* apresenta comportamento quadrático, enquanto *TB* é linear, ou seja, a modificação do amido neste caso é maior, o que facilita a reação do vapor da água em estado superaquecido, aumentando os espaços intermoleculares e intramoleculares, que favorecem a formação de pontes de hidrogênio, ligações covalentes, interações iônicas, entre outras, reduzindo a disponibilidade de amido com o aumento da densidade e do *VE*. O comportamento inverso foi obtido quando o processo foi desenvolvido com maior *UE* (21%) e menor *TB* (120 °C).

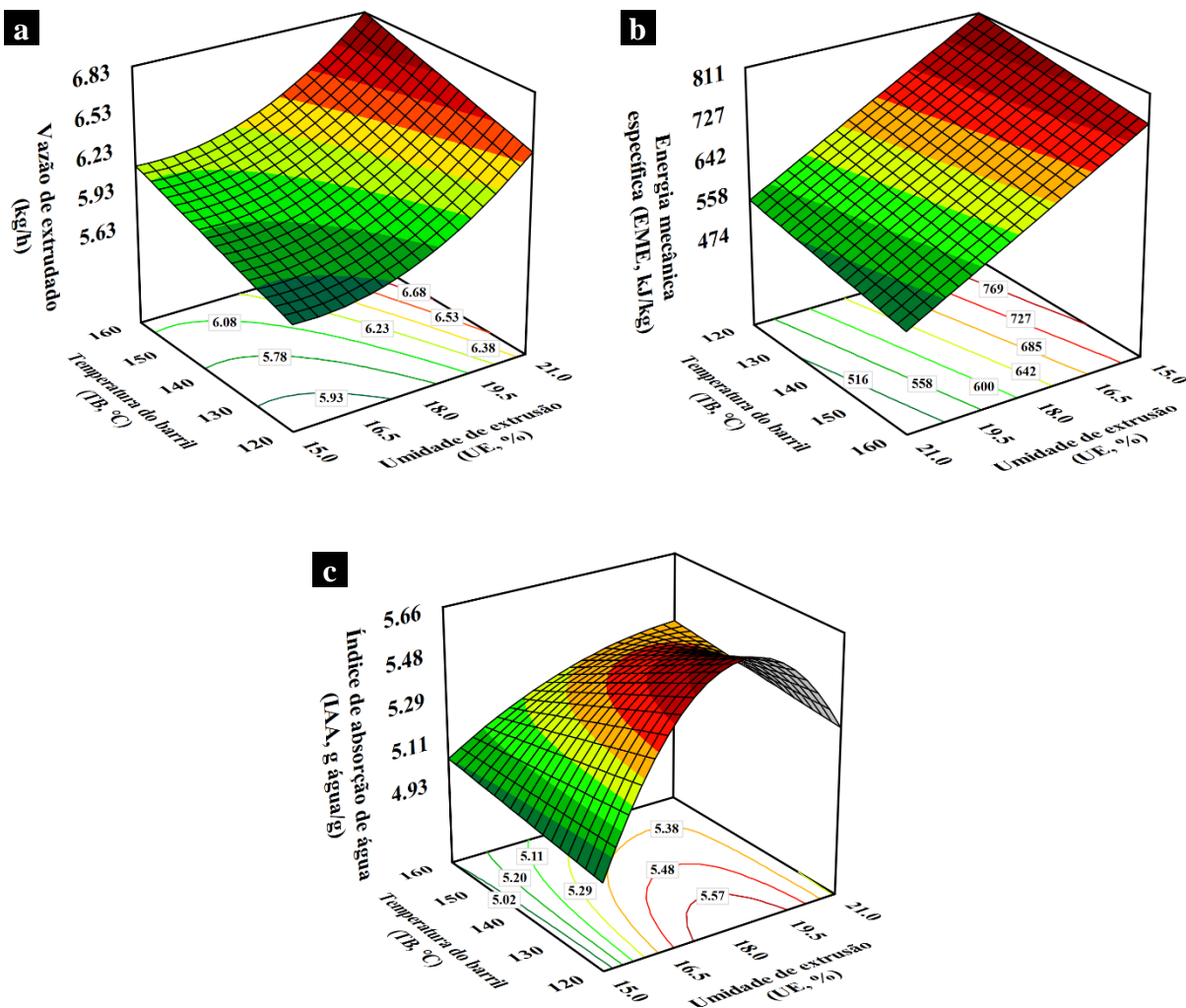
**Tabela 2.3.** Coeficientes de regressão (em níveis codificados) dos modelos ajustados para propriedades físicas de extrudados de *grits* de milho usando variáveis independentes: umidade de extrusão (*UE*), e temperatura do barril (*TB*).

Coeficiente	Variáveis de extrusão		Propriedades físicas				
	Vazão	EME	DA	IES	IEL	IEV	IAA
$\beta_0$	6.0071 **	642.48 **	240.81 **	10.65 **	0.5090 **	5.35 **	5.46 **
$\beta_1$	0.3787 **	-138.40 **	-	-5.04 **	-0.0351 **	-3.16 **	0.17 **
$\beta_{11}$	0.2206 *	-	-	0.77 ns	0.0369 *	1.21 **	-0.31 **
$\beta_2$	0.2198 **	-30.57 **	111.09 **	-1.34 **	0.0523 **	-	-0.19 *
$\beta_{22}$	-	-	-	-	-	-	-
$\beta_{12}$	-	-	-	-	-	-	-
$\beta_{122}$	-	-	-	-	-	-	-
$\beta_{112}$	-	-	-	0.93 *	-	-	0.24 *
$\beta_{1122}$	-	-	-	0.47 ns	-	-	-
$R^2$	0.8357	0.9651	0.9550	0.9858	0.7661	0.9686	0.72
$LoF$	0.3716 ns	0.8318 ns	0.8000 ns	0.8783 ns	0.2766 ns	0.2481 ns	0.23 ns

*EME*: energia mecânica específica; *DA*: densidade aparente dos extrudados; *IES*: índice de expansão seccional; *IEL*: índice de expansão longitudinal; *IEV*: índice de expansão volumétrica; *IAA*: índice de absorção de água; *LoF*: valor de p da falta de ajuste. \* Significativo em  $p < 0,05$ , \*\* Significativo em  $p < 0,01$ , ns: não significativo

Na **Figura 2.3**, podem ser verificadas as respostas na forma tridimensional das interações que ocorrem: a) vazão; b) energia mecânica específica; c) índice de absorção de água. A **Figura 2.3b** mostra o efeito do *UE* e *TB* sobre a *EME*, onde pode-se observar que esses dois fatores apresentam comportamento linear negativo inverso, ou seja, quanto menor a *UE* e quanto maior a *TB*, maior a *EME*. Por outro lado, quanto maior a *UE* e maior a *TB*, a *EME* apresentou menor valor. Tal comportamento pode ser explicado por que a *EME* está em função da energia térmica, gerada pela potência do motor, convertida em calor e armazenada na massa de alimentação dentro da extrusora, por efeito de difusão entre a parede da mesma e a massa transportada pela rosca e a energia mecânica gerada através das forças de cisalhamento pela passagem do material fundido entre o espaço da camisa da extrusora e as hélices do parafuso pelo processo de convecção.

Durante o processo de cozimento por extrusão, ocorre um aumento da temperatura, forças de cisalhamento e pressão que causam reações físicas e químicas na massa alimentar fundida, que modificam os dois principais biopolímeros do grão de milho, amido e proteínas. O amido se incha, as proteínas são desnaturadas e tanto pelos efeitos das forças de cisalhamento quanto pelo plastificante (água) que facilitam o rearranjo das moléculas de amido e proteína. Com as consequentes modificações das propriedades reológicas, da textura, da aparência e do sabor dos produtos (BOUVIER; CAMPANELLA, 2014).

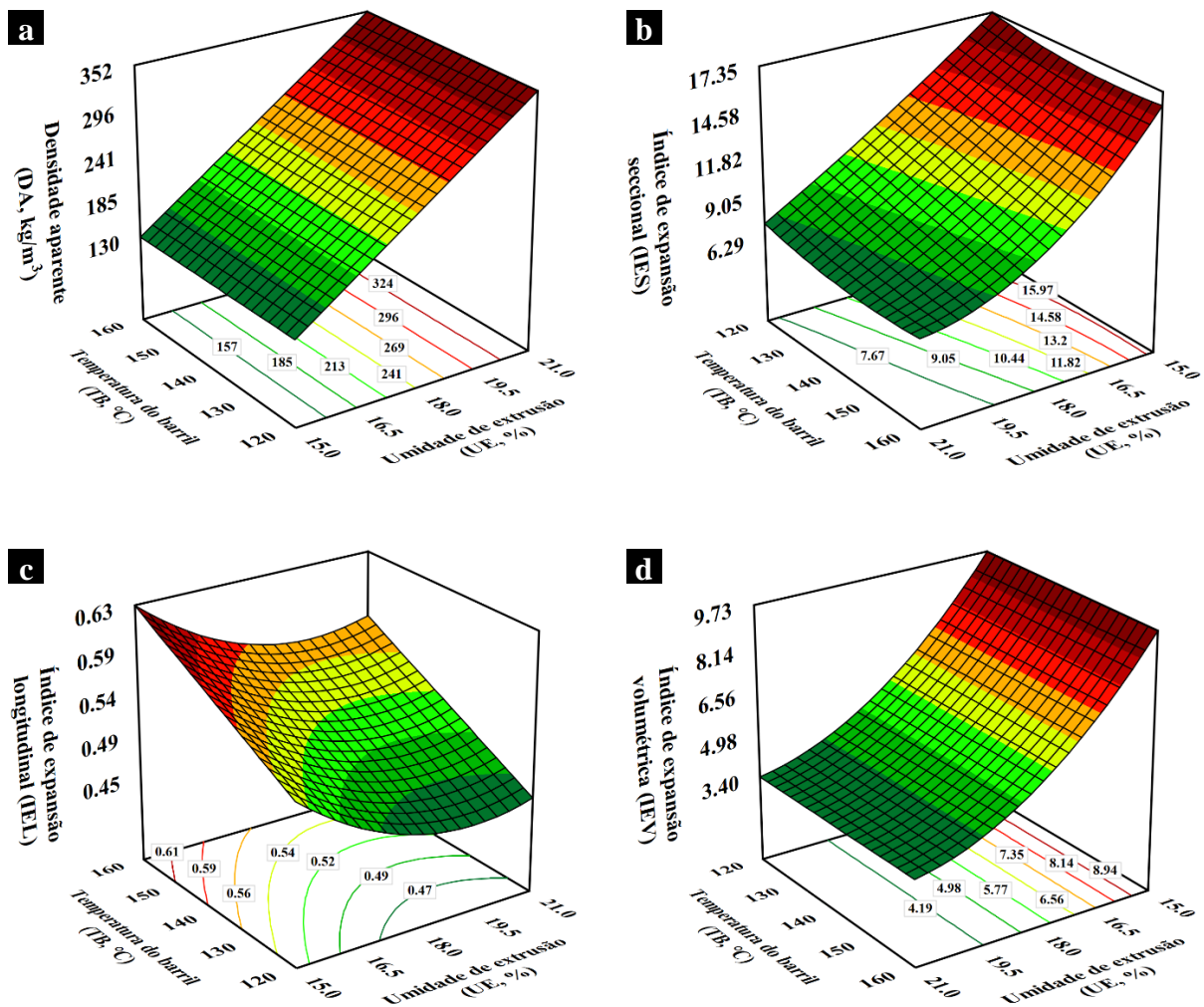


**Figura 2.3.** Gráficos de superfície de resposta para as variáveis de extrusão: a) vazão de extrusão (*Vazão*, kg/h) e b) energia mecânica específica (*EME*, kJ/kg); para as propriedades de hidratação: c) índice de absorção de água (*IAA*, g água/g).

Nesse sentido, visto que cada formula processada ou material submetido à extrusão no caso deste trabalho *grits* de milho oferecerá uma determinada resistência ou esforço mecânico, o qual é denominado Energia Mecânica Específica (*EME*). Nos resultados da **Tabela 2.3** pode-se verificar que a contribuição (%) do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para *EME* (0,96) e índice de absorção de água (*IAA*)  $R^2$  (0,73) e *IEV* foram 0,97, respectivamente. Nesse sentido, a *EME* mostra-se como parâmetro de resposta muito importante frente às condições de extrusão, principalmente nas variações de umidade de entrada (*UE*) ao sistema e extrusão. A **Figura 2.4** mostra o efeito dos fatores *UE* e *TB* sobre as propriedades de expansão do *grits* de milho, onde *UE* apresenta formato convexo, na qual corrobora com resultados apresentados por CHINNASWAMY e HANNA (1988). Da mesma forma, foi observado com a variável *TB*. (**Tabela 2.3**). Pelos resultados, os índices seccionais, volumétrico e longitudinal foram inversamente proporcionais com a diminuição da umidade. Corroborado por diversos autores (CHEN et al., 2011; CHINNASWAMY e HANNA, 1988; THYMI et al. 2005) que demonstraram que a menor umidade se teria maior grau de conversão do material amiláceo. Porém, do ponto de vista de expansão foi demonstrado que essa expansão alcançaria seu valor

máximo a uma umidade determinada. Assim, quando utilizada um menor ou maior valor do ideal, a expansão diminui. Isto, quando a menor umidade for processada, a estrutura molecular amilácea fica fraca para sustentar uma coerente formação de bolhas, pela maior degradação molecular. De acordo PARDHI et al. (2019), a baixa umidade no material de alimentação pode restringir seu fluxo para a extrusora, aumentando o cisalhamento e o tempo de residência, isto implica em altos graus de conversão, na qual os amidos podem alcançar a estruturas como as dextrinas.

Na **Figura 2.4**: a) densidade aparente (*DA*), b) índice de expansão seccional (*IES*), c) índice de expansão longitudinal (*IEL*) e d) índice de expansão volumétrica (*IEV*), com relação às mudanças de umidade (*UE*) e temperatura de barril (*TB*), respectivamente. Nota-se, de forma clara o efeito da umidade nos níveis de expansão. Na gráfica 5a sobre densidade aparente (*DA*) observa-se um comportamento linear negativo em relação ao teor de umidade de processamento.



**Figura 2.4.** Gráficos de superfície de resposta para as propriedades de expansão: a) densidade aparente (*DA*, kg/m<sup>3</sup>), b) índice de expansão seccional (*IES*), c) índice de expansão longitudinal (*IEL*), d) índice de expansão volumétrica (*IEV*).

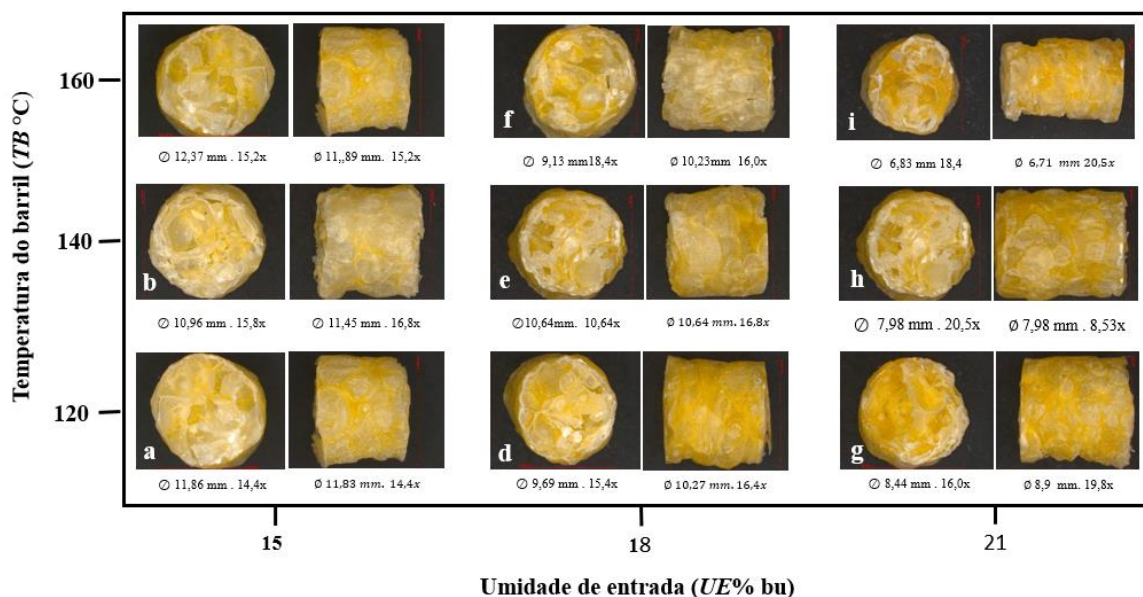


Isto é, na medida que se diminui a umidade de entrada há uma maior fricção e consequentemente maior taxa de cisalhamento no sistema, provocando maior grau de transformação ao material amiláceo.

Da mesma forma ocorre com o índice de expansão (**Figura 2.4a**, onde a expansão seccional ocorre com maior intensidade na medida que se impõe maior esforço mecânico dentro do barril. Isto também implica num maior valor de energia mecânica específica, na medida que se diminuem os valores de umidade na procura de maiores graus de expansão. Na **Figura 2.4b**, tanto a umidade como a temperatura são parâmetros que influenciam nos valores da expansão longitudinal. Menores valores de umidade e maiores valores de temperatura mostraram maiores valores de (*IEL*) **Figura 2.4c**. Porém, nos resultados indicados na **Figura 2.4d**, observa-se que a temperatura não teve maior efeito nos valores nos (*IEV*), sendo a umidade o fator mais importante, na qual a menor (*UE*) maior o valor (*IEV*). Semelhante resultado foram encontrados em diferentes trabalhos relacionados a esta área e estudo (ALVAREZ-MARTINEZ; KONDURY; HARPER, 1988; CHINNASWAMY; HANNA, 1988).

### 2.3.5 Micrografia Estereoscópicas de extrudados de *grits* de milho

A estereoscopia é uma técnica usada para se obter informações do espaço tridimensional, através da análise de duas imagens obtidas em pontos diferentes. É uma forma de visualizar dois pontos de visão de determinado objeto. As diferentes amostras dos expandidos foram cuidadosamente cortados transversalmente em peças de aproximadamente de 1cm de comprimento e lixadas na sua superfície. Na **Figura 2.5** são apresentadas micrografia de *grits* de milho extrudados com umidades de entrada (*UE*) de 15, 18 e 21% e temperaturas do barril (*TB*) de 120, 140 e 160 °C. Os diâmetros dos extrudados (seção transversal) e corte longitudinal com a magnificência (x) de acordo com (GUJRAL; SINGH; SINGH, 2001).



**Figura 2.5.** Imagem microscópica de luz de superfícies horizontal e longitudinal de extrudados de *grits* de milho (300 µm) e diâmetros correspondentes.

Nesse sentido, os extrudados expandidos foram observados – considerando os parâmetros de processo – de forma a verificar as mudanças conforme os níveis de umidade e temperatura de processamento. Evidentemente, requer de singular observação para se verificar as mudanças da estrutura amilácea dos extrudados. Dessa forma, na medida em que se diminui a umidade observa-se maior grau de expansão e consequentes mudanças na microestrutura ao se comparar entre os tratamentos com 15, 18 e 21% de umidade de processamento e sua relação com as mudanças de temperatura como observado também por os pesquisadores OWUSU-ANSAH; VAN DE VOORT; STANLEY, (1984). Há que considerar que, os parâmetros: umidade de processamento e temperatura de barril, são competitivos entre si, isto é, se utilizados concomitantemente, teremos resultados influenciados por ambos, de forma a que os efeitos produzidos no material estariam atribuídos a ambos os parâmetros.

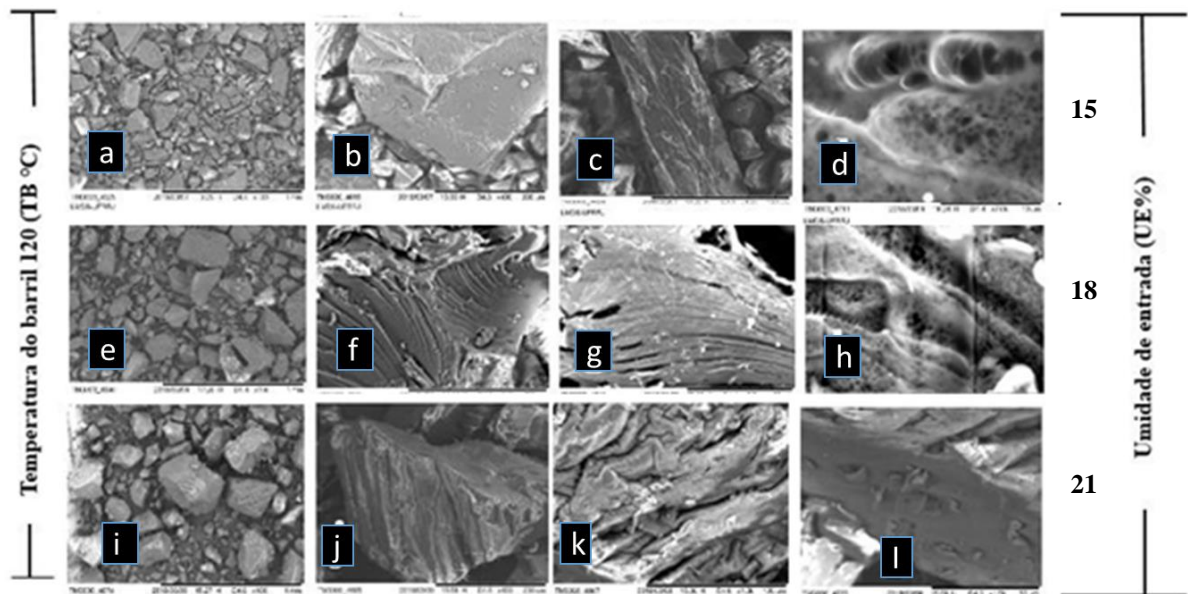
De forma independente, quando fixados apenas um deles sabe-se que no caso da umidade, a menor percentagem de entrada nos sistemas de extrusão, maior expansão, até um limite. Da mesma forma com a temperatura, maior temperatura maior expansão (ALAVAREZ-MARTINEZ et al., 1988).

É importante considerar que, nas circunstâncias do processamento por extrusão, há situações que podem implicar em variações do grau de conversão do material amiláceo e consequentemente, nas fotos tomadas, tais como: configuração de parafuso ou parafusos, tipo de canhão que pode ter, interior espiralado ou forma de canais. Também a luz (mm) entre o canhão e o parafuso, que pode provocar maior ou menor taxa de cisalhamento. Influencia também a granulometria do material processado, além do percentual de partículas vítreas e farináceas do *grits* processado. Todos esses fatores podem influenciar na microestrutura e nas observações de mudanças provocadas quando visualizadas nos microscópios.

### **2.3.6. Microscopia eletrônica de varredura de extrudados de *grits* de milho**

Na **Figura 2.6** são apresentadas micrografias realizadas com o microscópio eletrônico de varredura (MEV) a diferentes magnificações, de amostras processadas a temperatura de 120 °C, e umidades de entrada de 15, 18 e 21%, com objetivo de poder visualizar mudanças na microestrutura do material processado nas condições descritas.

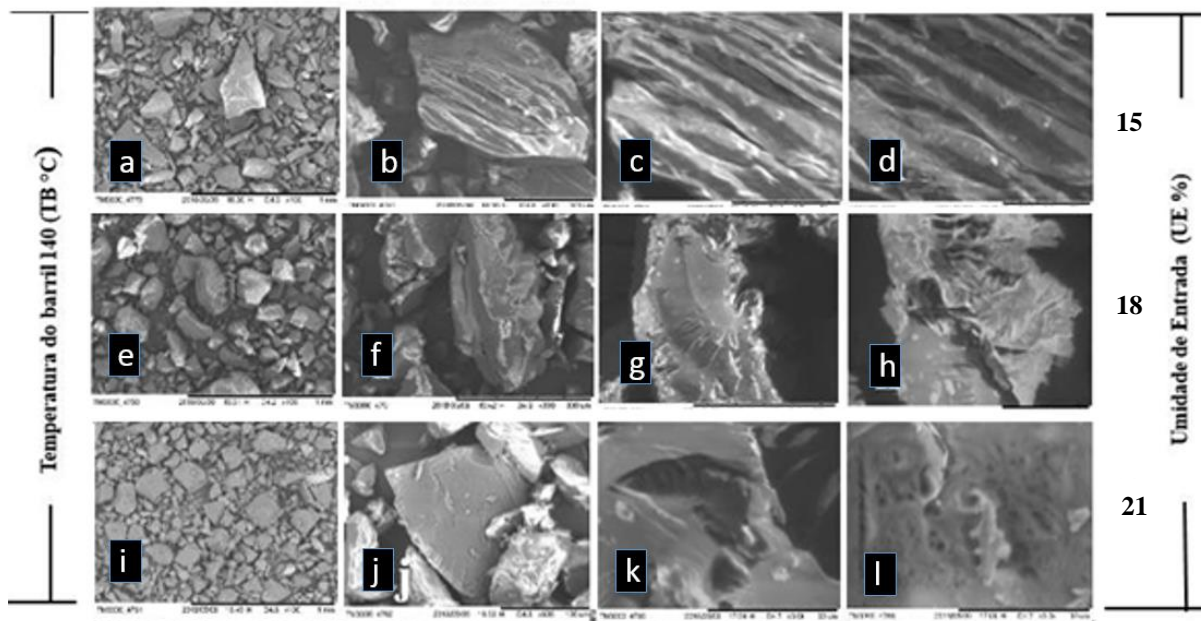




**Figura 2.6.** Micrografia de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de *grits* de milho (300  $\mu\text{m}$ ) temperatura do barril 120 (TB °C) e diferentes níveis de umidade de entrada (UE%): (a) 100x, (b) 400x, (c) 1,0 kV (Chen et al., 2011) e (d) 7,0 kV; (e) 100x, (f) 1,0 kV, (g) 2,5 kV e (h) 5,0 kV e; (i) 100x, (j) 400x, (k) 1,0 kV; e, (l) 1,5 kV. Abreviações:  $\emptyset$  = Diâmetro; x = Ampliação; kV=Quilo voltio. Anéis de crescimento.

Segundo o grau de magnificação, e tratamento utilizado, tais como variações na umidade de processamento, tendo a temperatura constante a 120° C, as micrografias apresentadas, não são de fácil interpretação. Porém, segundo grau do esforço mecânico, já demonstrado nos itens anteriores, a estrutura do material alcança a maior degradação quando processados a umidades menores de 15%. Pelo fato de se poder visualizar as micrografias, (d), (h) e (l) a 7,0 kV, 5,0 kV e 1,5 kV, respectivamente, permitem interpretar, a possibilidade de que na micrografia (d), há formação de bolhas, e estas em menor grau quando a umidade de processamento aumenta.

As figuras restantes, aparentemente, não apresentam significativas mudanças que permitam a interpretação do que ocorrera nas diferentes umidades.



**Figura 2.7.** Micrografia MEV de *grits* de milho extrudado; temperatura do barril 140 (TB °C) e diferentes níveis de umidade de entrada (UE%): (a) 100x, (b) 600x, (c) 1,5 kV; e (d) 2,0 kV; (e) 100x, (f) 300x, (g) 1,0 kV e (h) 2,0 kV; (i) 100x, (j) 600x, (k) 3,0 kV; e (l) 3,0 kV. Abreviações: Ø = Diâmetro; x = Ampliação; kV=Quilo voltio.

Na **Figuras 2.7**, se visualizam micrografias de amostras processadas a 140 °C, a diferentes níveis de umidade de entrada (UE). Neste caso, as diferentes micrografias resultantes, ficaram ainda mais complexas a possibilidade de interpretação, visto que os níveis de melhor expansão ocorrem até um limite, considerado como máximo, que quando ultrapassado, os valores de expansão diminuem. Dessa forma as micrografias (d) e (h) visualizadas 2,0 kV, e (l) 3,0 kV entre esses parâmetros apresentaram estruturas com variações, segundo o teor de umidade aplicado. Entende-se que o esforço mecânico a 21% comparado ao de 15% será significativamente menor. Consequentemente o grau de degradação será relativamente menor.

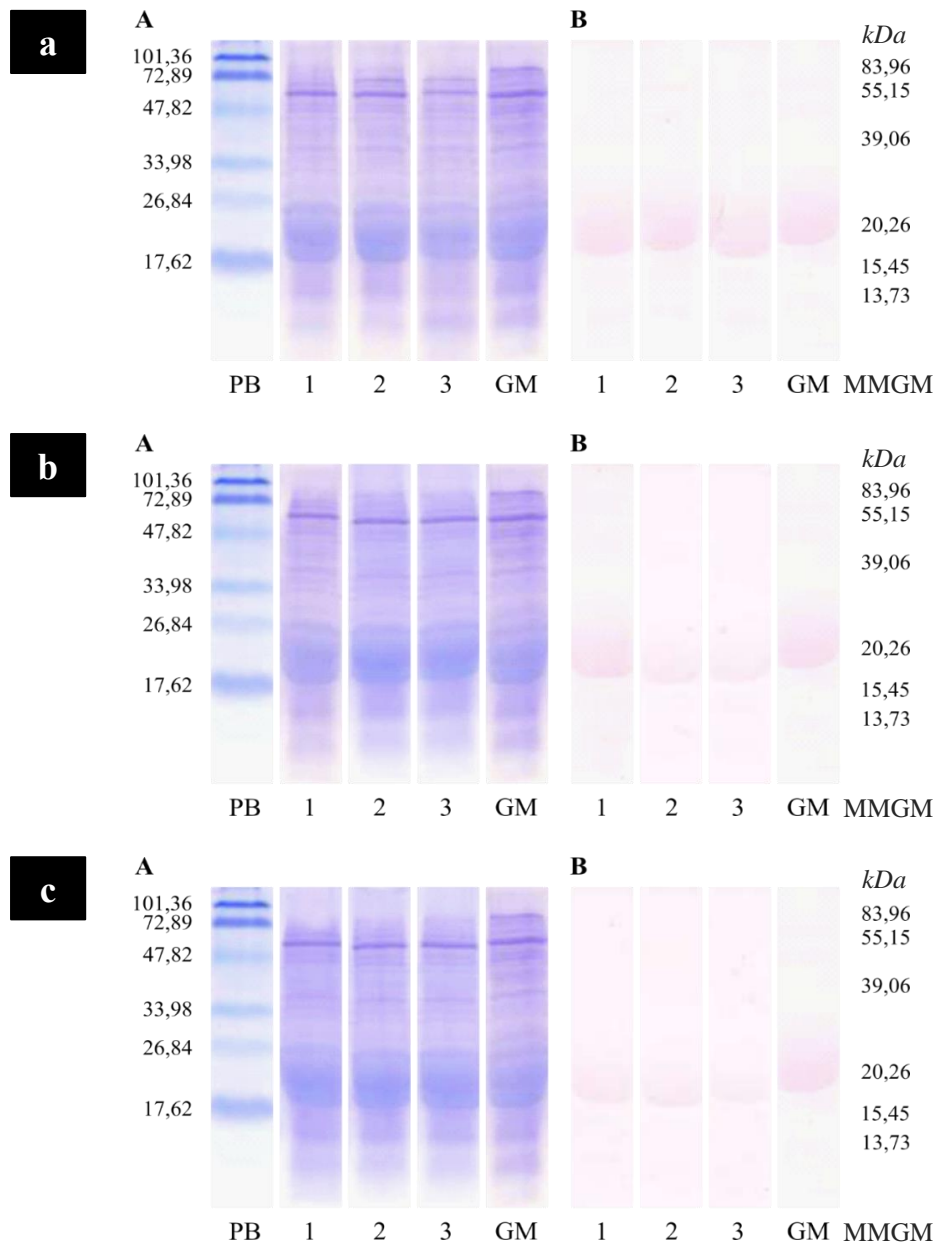
### 2.3.7 Eletroforese de *grits* e *snacks* expandidos de milho

De acordo com MCGUCKIN e MCKENZIE (1958), o uso de caótopos e agentes redutores de dissulfeto em estudos de solubilidade de proteínas permite abordar a natureza das interações Inter proteínas nos materiais originais e de sua modificação em processos tecnológicos. Em consequência do enunciado anterior, o cozimento por extrusão de farinhas ou misturas de farinha resulta no rearranjo estrutural de ambos proteína e amido, e posterior reorganização estrutural dessas macromoléculas (proteínas, em particular) pode ocorrer na extrusão ou na etapa de secagem. IAMETTI et al. (2006), demonstraram que as proteínas complexaram com as frações de carboidratos e migraram no gel de poliacrilamida nas mesmas bandas.

Na **Figura 2.8**, temos os resultados de eletroforese de *grits* de milho cru e processados por extrusão. As letras minúsculas **a**, **b** e **c**, representam os diferentes tratamentos com as

temperaturas 120, 140 e 160 °C a 15, 18 e 21% de umidade de processamento, respectivamente. A letra **A** representa a aplicação do corante azul brilhante de *Coomassie*, na qual nota-se as proteínas do milho nitidamente, pela própria cor azul que mostra nitidamente as diferentes bandas dos componentes proteicos. Por outro lado, na intenção de se verificar os carboidratos foi aplicado ácido periódico-fucsina (**B**), na figura nota-se cores opacas, porém suficiente para verificar uma fusão de proteínas e carboidratos que ocorreram por ocasião do cisalhamento durante o processo térmico aplicado na extrusão. Evidentemente, o calor pode ter contribuído para a diminuição do tamanho molecular dos componentes, que nas referências vários autores indicam uma degradação molecular e inclusive perda de aminoácidos em até 30% para tratamentos drásticos na elaboração de diferentes alimentos (FAN; MITCHELL; BLANSHARD, 1996; VICTORIANO et al., 2019).

Das três amostras referentes às condições de processo nas quais as temperaturas variaram de 120, 140 e 160°C, submetidas aos testes de análise por eletroforese SDS-PAGE, não foram observadas significativas mudanças no perfil proteico das amostras comparadas com milho cru e as processadas por extrusão. Porém, no tratamento com 120 °C, observa-se uma maior desnaturação, desaparecendo a faixa da fração proteica, aquela que consta com 83,96 kDa. Já a segunda faixa com 55,15 kDa, permaneceram nos diferentes tratamentos, mostrando a sua resistência a altas taxas de cisalhamento e temperatura. A aplicação do ácido periódico favorece a ligação dos compostos proteína-carboidrato, através de enlaces covalentes e não covalente (MATEMU et al., 2009).



**Figura 2.8.** Caracterização por eletroforese de amostras de *grits* de milho crua processadas por extrusão. PB, Padrão de proteína de baixa massa molecular gel de SDS-poliacrilamida (kDa) Amostras: *grits* de milho normal e farinha de expandidos; corados com azul brilhante de Coomassie: (A) para proteína e (B) ácido periódico-fucsina para carboidratos. PB, padrão de baixa massa molécula (kDa) fabricante de tamanho molecular contendo fosforilase-b (101,36 kDa), albumina de soro bovino (72,89 kDa), ovalbumina (47,82 kDa), anidrase carbônica (33,98 kDa), inibidor de tripsina de soja (26,84 kDa) e lisozima (17,62 kDa). a) linhas 1, 2 e 3 extrudados a 120 °C e 15, 18 e 21% de umidade de entrada (UE), respectivamente, e GM, *grits* de milho cru. b) linhas 1, 2 e 3 extrudados a 140°C e 15, 18 e 21% de umidade de entrada (UE), respectivamente; e, GM, *grits* de milho; c) linhas 1, 2 y 3 extrudados a 160 °C e 15, 18 e 21% de umidade de entrada (UE), respectivamente, e GM, *grits* de milho.

## 2.4 CONCLUSÃO

De acordo aos resultados de este capítulo, podemos concluir que o tratamento térmico realizado nas diferentes condições de extrusão, o material modifica-se segundo a taxa de cisalhamento calculado através de *EME* e temperatura imposta no material. A taxa de cisalhamento está relacionada com a umidade de processamento, desta forma, os resultados com 15% mostraram maiores graus de expansão. Consequentemente maiores graus de conversão do material amiláceos e a junção dos componentes amido-proteína-lipídio. O que pode ser verificado nos testes de microscopia MEV e eletroforese, onde há uma diminuição do tamanho/peso do componente proteico por efeito do esforço mecânico imposto ao *grits* de milho.

De mesma forma, são evidentes as transformações ocorridas quando analisados os gráficos tridimensionais dos índices de expansão, mostrando que a umidade foi o parâmetro de maior impacto sobre as características físicas de expansão como índices seccional, longitudinal e volumétrico.

Por outro lado, o efeito dos parâmetros umidade e temperatura são os que mais afetaram os valores de absorção de água, na medida que foram processados com maior umidade. Sendo, portanto, os ensaios com 18%, os que tiveram maiores índices de absorção de água. Isto está relacionado com a taxa de cisalhamento que diminui na medida que se aumenta o teor de água no processamento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. **American Association of Cereals Chemists**. Approved Methods of the AACC, The Association. St. Paul, Mc. 1983.

AHMED, Z. S. Physico-chemical, structural and sensory quality of corn-based flax-snack. **Food / Nahrung**, v. 43, p. 253–258, 1999.

AOAC. **Official Methods of Analysis**(18th ed.). Gaithersburg: AOAC International., 2005.

ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDRY, K. P.; HARPER, J. M. A General Model for Expansion of Extruded Products. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 609–615, 1988.

ANDERSON, R. A. et al. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, n. 1, p. 4–12, 1969.

ASCHERI, JOSÉ LUIS RAMÍREZ; GERMANI, ROGÉRIO. Protocolo de qualidade de milho. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2004. 23 p.; 21cm - (Embrapa agroindústria de Alimentos.Documentos, ISSN 0103-6068; 59).

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY–AOAC. **Official Methods of Analysis** (18th ed.). Gaithersburg: AOAC International. 2010.

BOUVIER, J. M.; CAMPANELLA, O. H. **Extrusion Processing Technology: Food and Non-Food Biomaterials**. London: Wiley-Blackwell, 2014.

CHEN, P. et al. Internal structures and phase-transitions of starch granules during gelatinization. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 4, p. 1975–1983, 2011.

CHINNASWAMY, R.; HANNA, M. A. Optimum Extrusion-Cooking Conditions for Maximum Expansion of Corn Starch. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 3, p. 834–836, 1988.  
DUVICK, D. N. Protein granules of maize endosperm cells. **Cereal Chemistry**, v. 38, n. 4, p. 374–385, 1961.

FAN, J.; MITCHELL, J. R.; BLANSHARD, J. M. V. The effect of sugars on the extrusion of maize grits: I. The role of the glass transition in determining product density and shape. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 55–65, 1996.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B. Ultrastructure of maize starch granules. A review. **Food microstructure**, v. 5, p. 141–155, 1986.

GUJRAL, H. S.; SINGH, N.; SINGH, B. Extrusion behaviour of grits from flint and sweet corn. **Food Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 303–308, 2001.

IAMETTI, S. et al. Properties of the Protein and Carbohydrate Fractions in Immature Wheat Kernels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 26, p. 10239–10244, 2006.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature** **1970 227:5259**, v. 227, n. 5259, p. 680–685, 1970.

MARTINEZ, B. F.; FIGUEROA, J. D. C.; LARIOS, S. A. High Lysine Extruded Products of Quality Protein Maize. **J Sci Food Agric**, v. 71, p. 151–155, 1996.

MATEMU, A. O. et al. Importance of size and charge of carbohydrate chains in the preparation of functional glycoproteins with excellent emulsifying properties from tofu whey. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1328–1334, 2009.

MCGUCKIN, W. F.; MCKENZIE, B. F. An Improved Periodic Acid Fuchsin Sulfite Staining Method for Evaluation of Glycoproteins. **Clinical Chemistry**, v. 4, n. 6, p. 476–483, 1958.

MONTGOMERY, D. C. Introduction to factorial designs. In: **Montgomery DC (ed) Design and Analysis of Experiments**. 8. ed. Hoboken: Wiley, 2013. p. 183–232.

OWUSU-ANSAH, J.; VAN DE VOORT, F. R.; STANLEY, D. W. Textural and Microstructural Changes in Corn Starch as a Function of Extrusion Variables. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, v. 17, n. 2, p. 65–70, 1984.

PARDHI, S. D. et al. Evaluation of functional properties of extruded snacks developed from brown rice grits by using response surface methodology. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 18, n. 1, p. 7–16, 2019.

PEREIRA, R. C. et al. Relationship between structural and biochemical characteristics and texture of corn grains. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 2, p. 498–508, 2008.

POMERANZ, Y.; CZUCHAJOWSKA, Z. Structure of coarse and fine fractions of corn samples ground on the stenvert hardness tester. **Food microstructure**, v.4. p. 213-219, 1985.

ROBUTTI, J. et al. Endosperm properties and extrusion cooking behavior of maize cultivars. **LWT - Food Science and Technology**, v. 35, n. 8, p. 663–669, 2002.

ROBUTTI, J. F.; HOSENEY, R. C.; WASSON, C. E. Modified Opaco-2 corn endosperm. II. Structure viewed with scanning electron microscope. **Cereal Chemistry**, v. 51, p. 173–180, 1974.

SHAIK, S. S. et al. Starch bioengineering affects cereal grain germination and seedling establishment. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 9, p. 2257–2270, 2014.

SHARIFI, S.; MAJZOBI, M.; FARAHNAKY, A. Effects of particle size and moisture content of maize grits on physical properties of expanded snacks. **Journal of Texture Studies**, v. 52, n. 1, p. 110–123, 2021.

SILVERIO et al. Development and structure of the corn kernel. Chapter 6. AACCI. Published by Elsevier Inc. in cooperation with AACC. International. 2019.

THYMI, S. et al. Structural properties of extruded corn starch. **Journal of Food Engineering**, v. 68, n. 4, p. 519–526, 2005.

VARGAS-SOLÓRZANO, J. W. et al. Impact of the Pretreatment of Grains on the Interparticle Porosity of Feed Material and the Torque Supplied During the Extrusion of Brown Rice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 1, p. 88–100, 2020.

VICTORIANO, L. G. et al. Physical–chemical characterization and antioxidant properties of extruded products made from mixtures composed of corn grits and red potato flour (*Oxalis tuberosa*). <http://mc.manuscriptcentral.com/tcyt>, v. 17, n. 1, p. 69–77, 2019.

WŁODARCZYK-STASIAK, M., JAMROZ, J. Specific surface area and porosity of starch extrudates determined from nitrogen adsorption data. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 4, p. 379–385, 2009.

XU, A., et al. Morphological characteristics of endosperm in different regions of maize kernels with different vitreousness. **Journal of Cereal Science**, 87, p.273-279. 2019.



## **CAPÍTULO III**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DE SNACKS EXPANDIDOS DE GRÃOS  
DE MILHO E MUDANÇAS NO PERFIL DE CAROTENÓIDES**

**PHYSICAL CHARACTERIZATION OF MAIZE GRITS EXPANDED  
SNACKS AND CHANGES IN THE CAROTENOID PROFILE**

## Physical Characterization of Maize Grits Expanded Snacks and Changes in the Carotenoid Profile

José Arturo Romero Rodríguez <sup>1</sup>, José Luis Ramírez Ascheri <sup>2</sup>, Artur Jorge da Silva Lopes <sup>3</sup>, Jhony Willian Vargas-Solórzano <sup>1</sup>, Sidney Pacheco <sup>2</sup>, Monalisa Santana Coelho de Jesus <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, km 7, Seropédica, RJ CEP 23890-000, Brazil

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Food Extrusion and Physical Properties Lab, Avenida das Américas 29501, Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ CEP 23020-470, Brazil

<sup>3</sup> Institute of Exact Sciences, Department of Physics, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, km 7, Seropédica, RJ CEP 23890-000, Brazil

### ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of feed moisture (13–17%, wb) and barrel temperature (120–160 °C) on physicochemical properties, and changes in the carotenoid profile of maize grits extruded snacks. The extrudates were obtained in a single-screw extruder, according to a 3<sup>2</sup> factorial design with two replicates. The linear coefficients of feed moisture and barrel temperature mainly affected the physicochemical properties. On the other hand, the interaction coefficient  $\beta_{112}$  dominated the change in total carotenoids, lutein, zeaxanthin, and  $\beta$ -carotene. The quadratic coefficients were also important for changes in total color (regarding feed moisture), and for  $\beta$ -cryptoxanthin, specific mechanical energy, and volumetric expansion index (regarding barrel temperature).  $\beta$ -cryptoxanthin and  $\beta$ -carotene increased, whereas lutein and zeaxanthin decreased. The mathematical models developed from responses revealed two feasible operating regions under the domain explored. For a satisfactory process, from a technological and nutritional point of view, it is suggested to extrude at the operating conditions ranging between 13.2–13.7% feed moisture and 120–132 °C barrel temperature. Under these conditions, the specific mechanical energy input required was 410–450 kJ/kg, and extrudates with a volumetric expansion index greater than 12, a crispness work less than 0.4 N.mm, and with moderate increments in the levels of  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin were produced. The use of richer cultivars in carotenoids could contribute to the production of healthier snacks.

**Keywords:** Feed moisture. Barrel temperature. Physicochemical property. Carotenoids. Extrusion cooking.

**Remark:** published in *Plant Foods for Human Nutrition*, January 2021, Volume 76, Issue 1, ISSN 1573-9104, <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00876-2>

### 3.1 INTRODUCTION

Maize grits are obtained from the dry milling of degermed grains, and maintain their pigments in the corneous endosperm, esterified to lipids, proteins, and starch granules (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDIVAR, 2018). In mature maize kernels, these pigments are mainly the carotenoids lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, and  $\beta$ -carotene. Their proportions in the kernel depend on the cultivar and the degree of exposure to temperature, light, oxygen, and pH (BORSARELLI; MERCADANTE, 2009; MOROS et al., 2002). It is of great interest in the investigation, to reduce the losses of these compounds during the extrusion process (CUETO et al., 2017), without affecting the expansion, texture, and color characteristics. Besides, knowing the degree of loss of carotenoids due to processing allows the development of fortified products that satisfy nutritional requirements for a target population.

During extrusion cooking, feed moisture is the main factor that affects the physicochemical properties of maize expanded extrudates (GUJRAL; SINGH; SINGH, 2001). The barrel temperature profile transfers heat by conduction to the wet mass that is being conveyed and worked by shearing forces in the extruder. Water facilitates heat transfer by convection and in combination with the set temperature profile, both plasticize the feed material. The temperature of the plasticized material is further increased by dissipating the mechanical energy required to turn the screw (GODAVARTI; KARWE, 1997). Under these conditions, starch and proteins are transformed into melts (BRENT et al., 1997). The resistance to the melt flow through the die plate causes pressure build-up inside the extruder. With the combined action of pressure, temperature, and shear, the bioactive compounds can be released or further encapsulated with these main polymers, through molecular entanglements (BAMIDELE; EMMAMBUX, 2020). Low moisture extrusion processes cause greater degradation of bioactive compounds (ORTIZ-CRUZ et al., 2020), since under these conditions more heat is generated by shear forces and the temperature of the molten material is increased to levels capable of producing thermal degradation at the die zone (BORSARELLI; MERCADANTE, 2009). Besides, air entrapped into the melt, from inter and intra-granular air-pores can increase the oxygen content to levels that favor oxidation reactions of bioactive compounds (MARTY; BERSET, 1990).

Expanded extrudates based on maize grits are generally processed in the range of 13-18% FM (wb). Despite having many published works on this topic (GUJRAL; SINGH; SINGH, 2001; ILO; BERGHOFER, 1999), few works studied the loss of carotenoids in this moisture range (CUETO et al., 2017; KAISANGSRI et al., 2016), interrelating with extrudates physical properties, and considering only the processing of maize grits, as indicators of the quality of extruded products. In many recent works, it was enriched the maize (starch, grits, or flour) with ingredients rich in carotenoids (CUETO et al., 2017; KAISANGSRI et al., 2016; ORTAK et al., 2017), or used biofortified maize genotypes (ORTIZ et al., 2018; ROSALES et al., 2016) to produce healthier extruded snacks. Some of them evaluated the combined effect of moisture and temperature (ILO; BERGHOFER, 1999; KAISANGSRI et al., 2016; ORTIZ et al., 2018). Through one-factor-at-a-time experiments, (CHINNASWAMY; HANNA, 1988) reported response curves for FM and BT, where a maximum expansion radius for maize starch was

achieved at 12.3% (wb) and 140 °C. Therefore, if FM and BT are varied simultaneously within an optimal region, it will be possible to produce maize extruded snacks with acceptable technological and nutritional characteristics.

The objective of this work was to study the effect of feed moisture (13-17%, wb) and barrel temperature (120-160 °C) on physicochemical properties (specific mechanical energy, total color change, volumetric expansion index, and crispness work) and changes in the carotenoid profile (lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, and  $\beta$ -carotene) of maize grits extruded snacks. Mathematical models were developed to interpret the changes in feed moisture and barrel temperature on dependent variables. These models were used to find feasible operating regions to produce maize extruded snacks with acceptable physicochemical properties (high volumetric expansion and low crispness work), and with low degradation levels in the carotenoid profile.

### 3.2 MATERIAL AND METHODS

In this work, normal maize grits acquired from a local industry were used. The chemical composition and particle-size distribution were determined following standardized methods. FM was fixed at levels according to the experimental design. The extrusion process was conducted in a single-screw extruder (Brabender 19/20 DN, Duisburg, Germany). The last heating zone of the extruder was also varied at levels according to the experimental design. The detailed “Materials and Methods” section is provided as a supplementary section (ANEXO B).

## 3.3 RESULTS AND DISCUSSION

### 3.3.1 Composition and Granulometry of the Feed Material

The normal maize grits had 10.90% moisture content, 0.87% fat, 5.98% protein (conversion factor of 5.75), 0.43% ash, 5.02% dietary fiber, and 81.75% carbohydrate content (determined by difference). The particle-size distribution showed a uniform feed material with 87% of the particles in the range of 850-1180  $\mu\text{m}$ . Most of them were polyhedral shaped particles, containing fractions of vitreous endosperm (*VE*, yellow and translucent regions) and floury endosperm (*FE*, white and opaque regions). *VE* consists of compact cells with polyhedral starch granules, surrounded by a dense protein matrix rich in prolamins, lipids, and carotenoids. While *FE* has intercellular spaces and its spherical cells have less protein surrounding the starch granules (BULÉON et al., 1998). These differences affect the wetting and melting of particles during extrusion cooking. In each particle, the *VE* fraction will be more difficult to wet and melt than the *FE* fraction, which will influence the physicochemical properties of the extrudates (ROBUTTI et al., 2002).

### 3.3.2 Physicochemical properties

**Table 3.1** shows the average values of the extrudates physicochemical properties. From the regression analysis (**Table 3.2**), the linear coefficients  $\beta_i$  for *FM* and *BT* were significant in all responses of this group.  $\beta_{11}$  was significant for total color change ( $\Delta E$ ), and was left in the model of specific mechanical energy (*SME*) to improve its  $R^2$  (0.9233).  $\beta_{22}$  was significant for *SME* and volumetric expansion index (*VEI*), and was left in the  $\Delta E$  model to improve its  $R^2$  (0.7045). The interaction coefficients  $\beta_{12}$  and  $\beta_{122}$  were significant for *SME* and *VEI*, respectively.

**Table 3.1.** Experimental design and responses for physicochemical properties and changes in carotenoid content of maize grits extrudates.

Trial	Experimental design		Physicochemical properties				Changes in carotenoid content ( $\mu\text{g}/100 \text{ g, db}$ )				
	<i>FM</i> %	<i>BT</i> °C	<i>SME</i> kJ/kg	$\Delta E$	<i>VEI</i>	$W_c$ N.mm	<i>TCA</i>	<i>LUT</i>	<i>ZEA</i>	$\beta CR$	$\beta CA$
1	13	120	441.87	20.48	13.71	0.275	154.15	-108.18	-25.74	14.40	45.03
2	15	120	362.05	25.48	10.19	0.381	298.80	-18.26	21.88	12.77	31.13
3	17	120	325.02	14.60	5.78	0.953	-14.18	-164.16	-49.59	17.76	49.31
4	13	140	454.93	18.93	12.96	0.387	120.97	-117.38	-12.60	15.79	39.71
5	15	140	376.14	20.23	8.15	0.701	251.69	-103.03	11.32	17.54	36.15
6	17	140	351.06	17.25	5.71	0.896	149.39	-96.95	-7.43	15.80	53.22
7	13	160	536.71	23.46	17.13	0.191	85.28	-122.23	-38.12	14.37	39.41
8	15	160	428.60	21.45	12.44	0.310	190.74	-138.62	-41.06	10.33	55.54
9	17	160	388.33	16.33	7.49	0.679	322.45	-36.64	-20.07	6.23	54.50
10	13	120	437.28	19.45	13.88	0.309	143.69	-110.72	-30.88	11.09	42.62
11	15	120	392.49	21.30	9.40	0.457	246.92	-27.90	19.64	10.53	30.95
12	17	120	404.44	13.72	5.35	1.002	-20.21	-187.51	-61.27	15.49	45.76
13	13	140	449.26	22.79	13.18	0.253	98.27	-133.69	-17.43	14.68	37.30
14	15	140	385.87	21.00	8.87	0.344	226.08	-130.67	10.19	15.28	32.61
15	17	140	314.22	15.28	5.69	0.667	133.57	-100.85	-8.58	15.80	40.46
16	13	160	529.74	24.48	16.90	0.201	79.25	-147.36	-53.20	12.17	37.00
17	15	160	448.35	26.43	12.32	0.379	152.15	-140.46	-44.77	9.22	54.25
18	17	160	370.22	22.72	8.61	0.493	269.50	-47.42	-26.59	6.23	44.15

Carotenoid content ( $\mu\text{g}/100 \text{ g, db}$ ) of maize grits \*

<i>TCA</i>	<i>LUT</i>	<i>ZEA</i>	$\beta CR$	$\beta CA$
774.6(4.3)	412.3(6.8)	164.0(3.4)	25.3(0.0)	19.3(1.7)

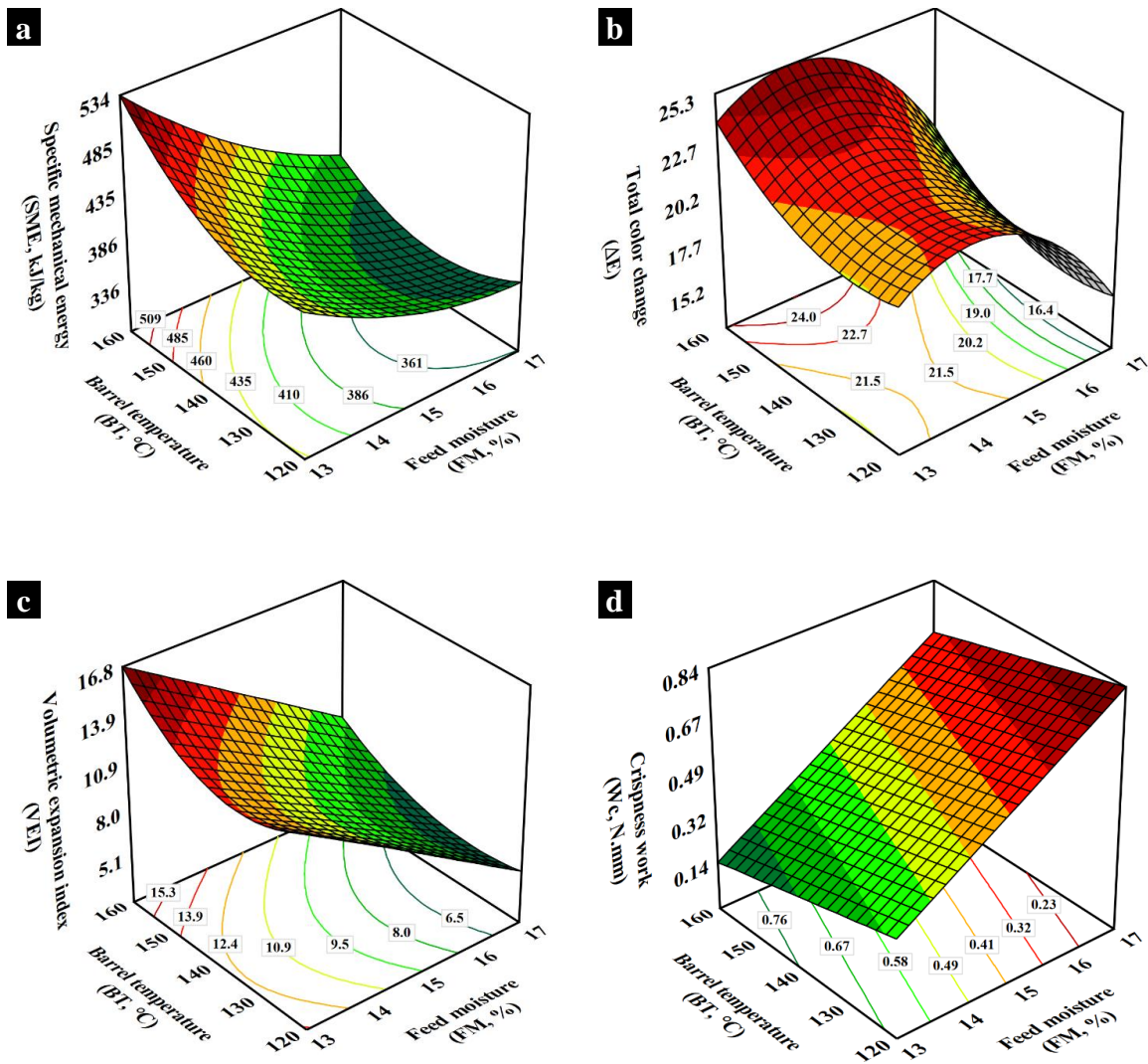
*FM*: feed moisture; *BT*: barrel temperature in the last zone; *SME*: specific mechanical energy;  $\Delta E$ : total colour change; *VEI*: volumetric expansion index;  $W_c$ : crispness work; *TCA*: total carotenoid changes; *LUT*: lutein changes; *ZEA*: zeaxanthin changes;  $\beta CR$ :  $\beta$ -cryptoxanthin changes;  $\beta CA$ :  $\beta$ -carotene changes. \* Mean (standard deviation) of two replicates.

**Table 3.2.** Regression coefficients (in coded levels) of adjusted models for physical properties and carotenoid changes of maize grits extrudates using independent variables: feed moisture (*FM*), and barrel temperature (*BT*).

Coeff.	Physicochemical properties				Changes in carotenoid content				
	<i>SME</i>	$\Delta E$	<i>VEI</i>	$W_c$	<i>TCA</i>	<i>LUT</i>	<i>ZEA</i>	$\beta CR$	$\beta CA$
$\beta_0$	376.58 **	21.59 **	9.09 **	0.493 **	227.73 **	-116.85 **	12.91 **	15.82 **	34.38 **
$\beta_1$	-58.04 **	-2.47 **	-3.68 **	0.256 **	13.24 ns	8.84 *	-	-0.43 ns	3.86 *
$\beta_{11}$	18.01 ns	-3.52 *	-	-	-100.88 **	4.63 ns	-25.49 **	-	8.30 *
$\beta_2$	28.23 **	1.65 *	1.38 **	-0.094 *	-50.71 **	-58.23 **	-31.84 **	-1.96 **	11.93 **
$\beta_{22}$	33.51 *	1.58 ns	2.01 **	-	-	35.54 **	-25.06 **	-4.10 **	8.59 *
$\beta_{12}$	-19.78 *	-	-	-	94.96 **	39.79 **	12.36 **	-2.73 **	-
$\beta_{122}$	-	-	-0.61 *	-	-	-	-	-	-
$\beta_{112}$	-	-	-	-	112.34 **	85.34 **	35.53 **	-	-12.89 **
$\beta_{1122}$	-	-	-	-	-	-38.85 **	-	-	-6.54 ns
$R^2$	0.9233	0.7045	0.9890	0.7761	0.9706	0.9646	0.9704	0.8407	0.8335
<i>LoF</i>	0.9650 ns	0.6009 ns	0.1458 Ns	0.2434 ns	0.8261 ns	0.3704 ns	0.4267 ns	0.1493 ns	0.4781 ns

*SME*: specific mechanical energy;  $\Delta E$ : total colour change; *VEI*: volumetric expansion index;  $W_c$ : crispness work; *TCA*: total carotenoid changes; *LUT*: lutein changes; *ZEA*: zeaxanthin changes;  $\beta CR$ :  $\beta$ -cryptoxanthin changes;  $\beta CA$ :  $\beta$ -carotene changes. *LoF*: *p*-value of the lack of fit calculated from the ANOVA test. \* Significant at  $P < 0.05$ , \*\* Significant at  $P < 0.01$ , ns not significant.

According to the significance and signs of  $\beta_i$  and  $\beta_{ii}$  in **Table 3.2**, the linear term of *FM* and *BT* inversely influenced the physicochemical properties, the curvatures due to *FM* were concave for  $\Delta E$ , and the curvatures due to *BT* were convex for *SME* and *VEI*. These trends are also shown in **Figure 3.1**, as curvatures and linearity at the edges of the response surfaces. The negative coefficients in the interaction term of *SME* and *VEI*, contributed to rotating their surfaces counterclockwise. In **Figure 3.1**, *SME* and *VEI* increased with decreasing *FM*, and increasing *BT*.  $\Delta E$  increased with increasing *BT*, and increasing *FM* in the range of 13 to 15%. On the other hand,  $\Delta E$  decreased with decreasing *FM* in the range of 15 to 17%.  $W_c$  increased with increasing *FM*, and decreasing *BT*. The positive effect of *FM* was about 2.7 times the negative effect of *BT*.



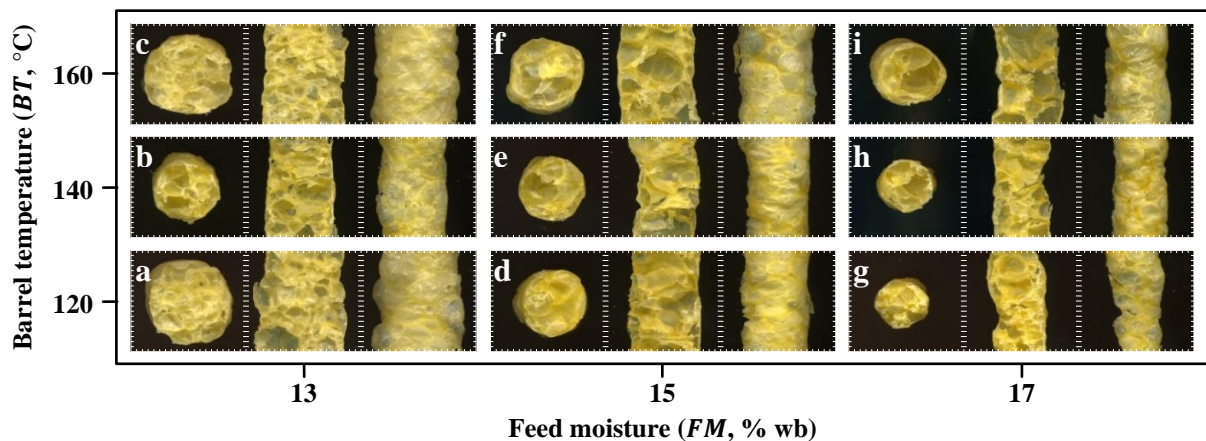
**Figure 3.1.** Response surface plots for physicochemical properties: a) specific mechanical energy (*SME*, kJ/kg); b) total color change ( $\Delta E$ ); c) volumetric expansion index (*VEI*); d) crispness work ( $W_c$ , N·mm).

As *FM* increases, the shear forces and torque decrease due to a greater plasticizing effect. Besides, the viscosity of the melt and pressure build-up in the die decrease, while the mass flow of the unexpanded extrudates increases. Under these conditions, *SME* decreases.



Low expansion extrudates are denser, less crispy and color-preserving products. As temperature in the last heating zone (*BT*) increases, the thermal energy supplied along the horizontal cylinder decreases the viscosity of the melt, due to the alignment of the starch and protein polymers. When forced to pass through the die, these polymers accumulate viscoelastic energy. Upon exit from the die and due to the pressure drop, this energy is released in radial and longitudinal directions, contributing to the expansion of the extrudate. Expanded extrudates showed thin-walled air cells, a crisper texture, and are lighter (CHENG; HANSEN, 2016). The viscosity of the melt can also be influenced by the reactivity of proteins, as a function of temperature. The previously hidden sulfur amino acid residues can become exposed and form cross-linked networks, interconnecting more starch polymers (ARÊAS; ROCHA-OLIVIERI; MARQUES, 2016). It seems that at 120 and 160 °C, this reaction is favored, contributing to higher viscoelastic energy in the melt, increasing *SEI* and *VEI*, but degrading  $\Delta E$  (**Figure 3.1a-c**).

*FM* was reported to decrease the *SME* (LAZOU; KROKIDA, 2011) and *VEI* (ALVAREZ-MARTINEZ; KONDURY; HARPER, 1988). When comparing the expansion ratio (*ER*) of normal maize grits extrudates, GUJRAL et al. (2001) reported 2.08 at low *FM* and low *BT* (16% – 125 °C). On the other hand, THYMI et al. (2005) achieved an *ER* < 4 at low *FM* and high *BT* (13.2% – 260 °C). In the present work, a maximum *ER* (4.94) was obtained at low *FM* and high *BT* (13% – 160 °C, **Figure 3.1c**). The observed differences may be related to the *FM* range explored by GUJRAL et al. (2001) (16 – 24%, wb) and the extruder type used by THYMI et al. (2005) (counter-rotating twin-screw conical extruder). The expansion index as a function of *BT* showed a slight convex trend during the production of extruded maize starch-passion fruit pulp snacks (CORTÉS; GUZMÁN; MARTÍNEZ-BUSTOS, 2014). However, the model they reported showed a significant lack of fit.



**Figure 3.2.** Sectional and longitudinal (internal and external) scanned images of maize grits expanded extrudates at variable feed moistures and barrel temperatures. Scale in mm, at the edge of each image.

In the scanned images at 120 or 160 °C *BT* (**Figure 3.2**), both sectional and longitudinal views decreased as *FM* increased. Whereas, at 140 °C *BT*, these reductions were only observed at 17% *FM* (**Figure 3.2h**). The extrudate at *FM* – *BT*: 13% – 160 °C (**Figure 3.2c**) presented smaller and more uniform air cells (3.2 – 3.5 mm) than the other treatments. The extrudate at

*FM – BT*: 17% – 160 °C (**Figure 3.2i**) presented the largest air cells (4.8 – 5.1 mm) and heterogeneous internal structure. Regardless of temperature, the extrudates at 17% *FM* (**Figure 3.2i-g**) showed more intense yellow coloration. In the cutting zone of the extrudates at *FM-BT*: 17% – 120 °C (**Figure 3.2g**), the walls of the air cells were thicker and white areas were observed, probably indicating uncooked starchy material under these conditions.

Hardness and  $W_c$  are directly related (VALENZUELA-LAGARDA et al., 2018). The hardness of brown rice extrudates increased with increasing *FM*, and decreasing *BT* (PARDHI et al., 2019), as was observed in this work. However, DING et al. (2005) reported an opposite behavior of *FM* for the crispness (area) of rice-based expanded snacks.

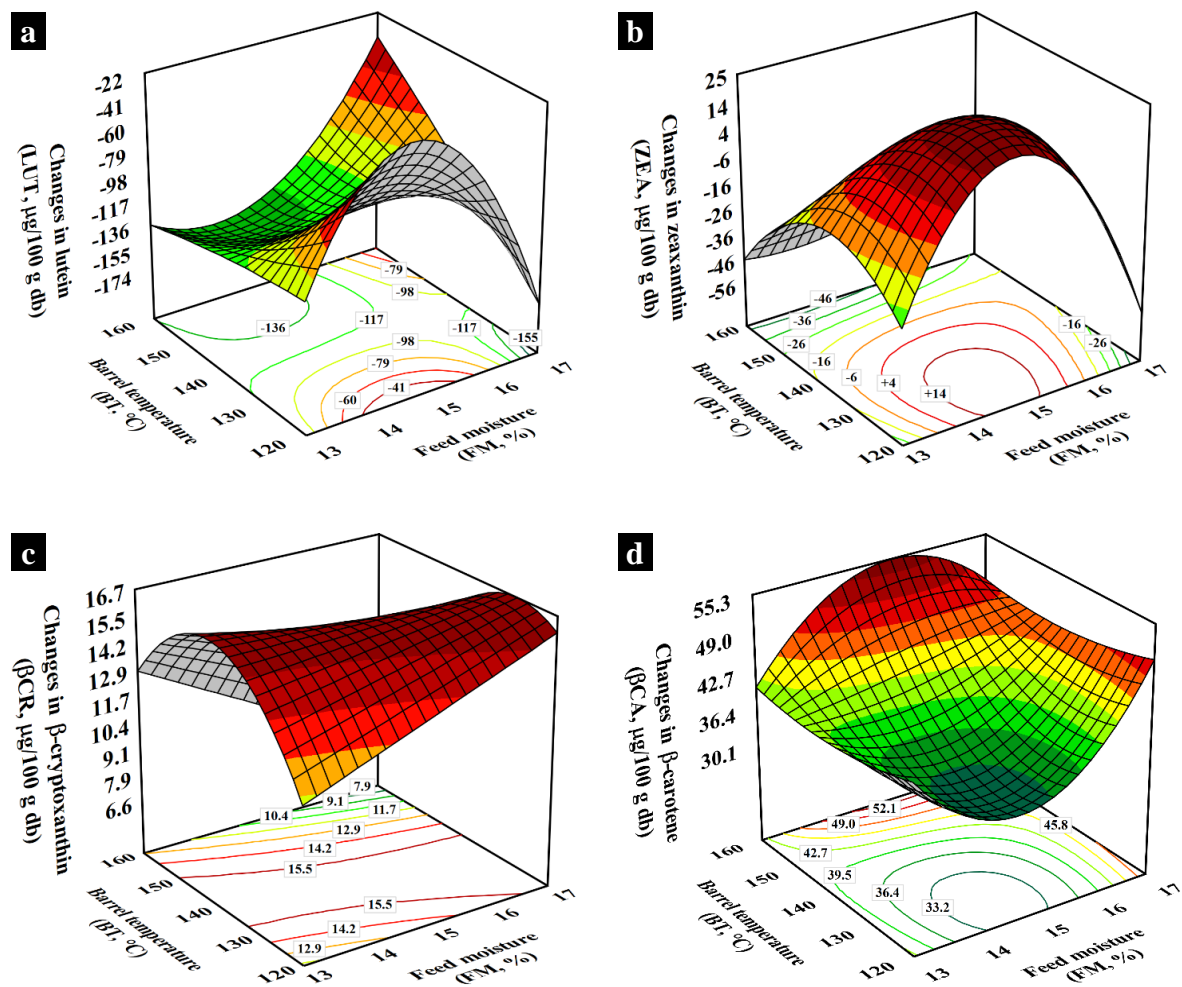
*SME* and *VEI* correlated well (+ 0.91), and maximum values were achieved at *FM-BT*: 13% – 160°C (534.1 kJ/kg and 16.8, respectively). Due to screw wear, *SME* must be minimized. A minimum *SME* response (336.0 kJ/kg) was defined at *FM-BT*: 17% – 137.5 °C. The color change and crispness work in the extrudates should be minimized. A minimum  $\Delta E$  response (15.2) was defined at *FM – BT*: 17% – 129.5 °C.  $\Delta E$  showed poor correlations with *SME* (+ 0.53) and *VEI* (+ 0.69). A minimum  $W_c$  response (0.14 N.mm) was defined at *FM-BT*: 13% – 160 °C.  $W_c$  showed moderate correlations with *SME* (– 0.71) and  $\Delta E$  (– 0.79).

The maximum expansion observed at low *FM* and high *BT*, could be related to an extra increase in the melt temperature, due to a greater viscous dissipation of mechanical energy ( $\geq 485$  kJ/kg, **Figure 3.2a**) into heat (GODAVARTI; KARWE, 1997). Under these conditions, the superheated water in the melt is flashed-off as the extrudates stream exits the die and equilibrates at ambient pressure (KAUR et al., 2014). The higher the pressure and temperature in the die, the water will be in a more superheated state and will stretch the melt to a higher degree, and according to its elastic properties. Considering the composition of the normal maize grits used, a food matrix rich in amylopectin associated with a protein and fiber content of around 5% each, the melt achieved the highest volumetric expansion ( $\geq 13.9$ , **Figure 3.2c**).

### 3.3.3 Total carotenoids and carotenoid profile

Changes in total carotenoids (*TCA*) and carotenoid profile ( $\mu\text{g}/100$  g, db) are presented in **Table 3.1**. From the regression analysis (**Table 3.2**), the linear coefficient  $\beta_1$  was significant for *LUT* and  $\beta_{CA}$ , and was included in the models of *TCA* and  $\beta_{CR}$  to improve their  $R^2$  (0.9706 and 0.8407, respectively). The linear coefficient  $\beta_2$  was significant in all responses of this group.  $\beta_{11}$  and  $\beta_{22}$  were significant for *ZEA* and  $\beta_{CA}$ . Besides,  $\beta_{11}$  was also significant for *TCA*, whereas  $\beta_{22}$  for *LUT* and  $\beta_{CR}$ . The interaction coefficient  $\beta_{12}$  was significant in all responses of this group except for  $\beta_{CA}$ , whereas  $\beta_{112}$  was important for *TCA*, *LUT*, *ZEA*, and  $\beta_{CA}$ . The quartic interaction coefficient  $\beta_{1122}$  was significant only for *LUT*, and was included in the model of  $\beta_{CA}$ , to improve its  $R^2$  (0.8335).

According to the signs of  $\beta_i$  in **Table 3.2**, *FM* positively influenced on *LUT* and  $\beta_{CA}$ , whereas *BT* negatively affected on *TCA*, *LUT*, *ZEA*, and  $\beta_{CR}$ , and positively on  $\beta_{CA}$ . According to the signs of  $\beta_{ii}$ , the response surfaces showed concavities due to *FM* in *TCA* and *ZEA*, concavities due to *BT* in *ZEA* and  $\beta_{CR}$ , convexity due to *FM* in  $\beta_{CA}$ , and convexities due to *BT* in *LUT* and  $\beta_{CA}$ . These trends are also shown in **Figure 3.3**, as curvatures and linearity at the edges of the response surfaces.



**Figure 3.3.** Response surface plots for changes in carotenoid content ( $\mu\text{g}/100\text{ g, db}$ ): a) lutein (*LUT*); b) zeaxanthin (*ZEA*); c)  $\beta$ -cryptoxanthin ( $\beta\text{CR}$ ); d)  $\beta$ -carotene ( $\beta\text{CA}$ ).

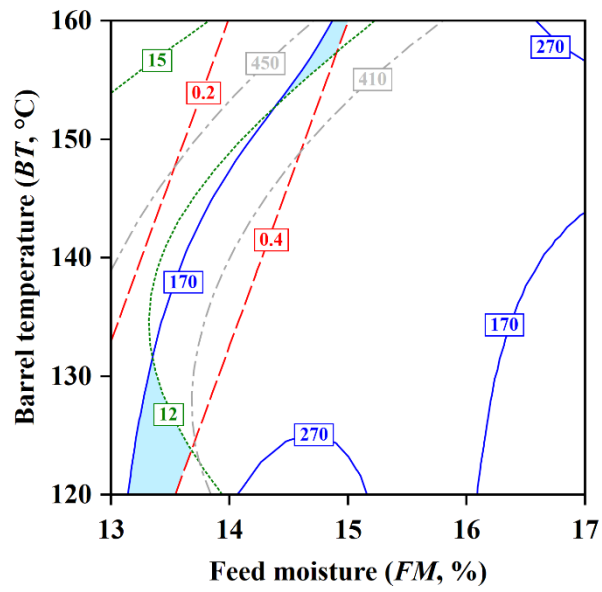
Carotenoids were affected differently. In **Table 3.1**, the positive values for *TCA* (except at 17% – 120 °C), *ZEA* (only at 15% – 120/140 °C),  $\beta\text{CR}$ , and  $\beta\text{CA}$  indicate an increase of these compounds after extrusion, which means that the process favored the degree of extractability of these carotenoids. An enhanced extractability of carotenoids in yellow maize tortillas processing was reported MENDOZA-DÍAZ et al. (2012). The highest extractability ( $\mu\text{g}/100\text{ g, db}$ ) in the domain explored was at 14.6% – 120°C for *TCA* (286.3), at 17% – 128.6 °C for  $\beta\text{CR}$  (16.7), and at 15.3% – 160 °C for  $\beta\text{CA}$  (55.2). The negative values in **Table 3.1** indicate reductions in *LUT* and *ZEA* after the extrusion process. *LUT* degraded more than *ZEA*, as shown by more negative values. These carotenoids were more soluble and exposable to oxidation and isomerization in high food matrices like cookies (ABDEL-AAL et al., 2010). In many works, where maize (starch, grits, or flour) was enriched with a carotenoid source (synthetic or natural), degradation of *LUT* and  $\beta\text{CA}$  after extrusion were always reported (KAISANGSRI et al., 2016; ORTAK et al., 2017). This was probably due to a high concentration of carotenoids in the enrichment ingredient particles, which were more prone to degradation. In some processes, less degradation of  $\beta\text{CA}$  was confirmed, probably attributed to the proteins dispersed in the melt, by acting as a protective matrix in which the  $\beta\text{CA}$  molecules were encapsulated (YING et al.,

2015). The lowest degradation ( $\mu\text{g}/100 \text{ g, db}$ ) in the domain explored was at 14.7% – 120 °C for *LUT* (-21.1) and at 14.8% – 127 °C for *ZEA* (23.3).

Under extrusion conditions, carotenoids are exposed to thermal and mechanical stress (KAISANGSRI et al., 2016; ORTAK et al., 2017), in which the combined action of shear forces, high temperature, and pressure build-up inside the barrel, caused the loss of *LUT* and *ZEA*. During mechanical mixing of water and starch, oxygen diffusion is favored and, high pressure inside the extruder increases the system energy, causing overheating. These conditions associated with the reactivity of carotenoids can lead to several transformations, such as oxidative degradations in parallel with isomerization changes (MARTY; BERSSET, 1990). The reactivity of carotenoids can be differentiated according to the number of hydroxyl groups and the chain length in the conjugated double bond system. The two  $\beta$ -ionone rings confer 11 conjugated dienes to *ZEA*,  $\beta\text{CR}$ , and  $\beta\text{CA}$  (ABDEL-AAL et al., 2013), giving them more stability compared to *LUT*. Besides, increments or reductions in the carotenoids content could also be associated with the degree of interrelation with proteins. The xanthophylls are located in the nucleus of the protein bodies of zein (MOROS et al., 2002) making their extraction difficult. The extrusion process allowed the breakdown of protein bodies as long as the *SME* was greater than 100 kJ/kg (BATTERMAN-AZCONA; LAWTON; HAMAKER, 1999). In this work, the *SME* for all trials was higher than 300 kJ/kg (**Table 3.1, Figure 3.1a**), allowing enough energy to release the zein-carotenoid complex, and facilitating oxidation and isomerization reactions for *LUT* and *ZEA*, or extractability for  $\beta\text{CR}$  and  $\beta\text{CA}$ .

### 3.4 Optimization

To find the appropriate extrusion conditions, so that technological and nutritional properties are satisfied (increased carotenoid content with the best expansion and textural properties), the contour plots of *TCA*, *VEI*, and  $W_c$  were overlaid, keeping them in the following desired ranges:  $170 \leq TCA$  ( $\mu\text{g}/100 \text{ g, db}$ ),  $12 \leq VEI$ , and  $W_c$  (N.mm)  $\leq 0.4$ . **Figure 3.4** identifies two regions (as shaded areas), which satisfy all proposed constraints. The feasible operating regions were located in the range of 13.1-13.7% *FM* and 120-132 °C *BT* for the large region (below) and in the range of 14.4-15.0% *FM* and 153-160 °C *BT* for the small region (above). Under these conditions, the mechanical energy input was 410-450 kJ/kg, and maize grits extruded snacks, with the best product quality in terms of *VEI*,  $W_c$ , and high extractability of *TCA* were produced. Processing under the conditions of the large region will occur changes in total color and changes in the carotenoid profile ( $\mu\text{g}/100 \text{ g, db}$ ), regarding the initial concentration of the feed material, as follows: reduction in  $\Delta E$  from 20.5 to 21.5, reduction in *LUT* content from 70 to 98, reduction or a slight increase in *ZEA* content from -20 to 5, increase in  $\beta\text{CR}$  and  $\beta\text{CA}$  contents from 12 – 15 and 34 – 40, respectively.



**Figure 3.4.** Region of the optimum found by overlaying response surfaces: changes in total carotenoids ( $TCA$ ,  $\mu\text{g}/100$  g, db — blue —); volumetric expansion index ( $VEI$ , — dotted green —); crispness work ( $W_c$ , N.mm — dashed red —); Specific mechanical energy ( $SME$ , kJ/kg — dashed grey —).

### **3.4 CONCLUSION**

Feed moisture and barrel temperature significantly interplayed on changes in carotenoid profile and physicochemical properties of maize grits extruded snacks. By changing both factors within the domain studied, it was possible to identify two optimal regions, using the mathematical models developed from responses. The larger region that ranged between 13.2 – 13.7% feed moisture and 120 – 132 °C barrel temperature, allowed appropriate extrusion conditions to increase ( $\beta$ -cryptoxanthin and  $\beta$ -carotene) or minimize (lutein and zeaxanthin) the carotenoid profile. This region satisfied the technological properties of the maize grits extruded snack, with a volumetric expansion index greater than 12, and a crispness work less than 0.4 N.mm. Under these conditions, the mechanical energy delivered to the feed material (410 – 450 kJ/kg), caused minimal losses of zeaxanthin and a moderate increase in  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin. The use of cultivars with high carotenoid contents could guarantee more nutritious maize snacks.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors thank to CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), and FAPERJ (Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) for their generous support of this work.

## REFERENCES

- ABDEL-AAL, E. S. M. et al. Stability of lutein in wholegrain bakery products naturally high in lutein or fortified with free lutein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 18, p. 10109–10117, 2010.
- ABDEL-AAL, E. S. M. et al. Dietary sources of lutein and zeaxanthin carotenoids and their role in eye health. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1169–1185, 2013.
- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDIVAR, S. O. Minor constituents and phytochemicals of the Kernel. In: **Corn: Chemistry and Technology, 3rd Edition**. Elsevier, 2018. p. 369–403.
- ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDURY, K. P.; HARPER, J. M. A General Model for Expansion of Extruded Products. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 609–615, 1988.
- ARÊAS, J. A. G.; ROCHA-OLIVIERI, C. M.; MARQUES, M. R. Extrusion cooking: chemical and nutritional changes. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. (Eds.). **Encyclopedia of food and health**. Oxford: Academic Press, vol 2, 2016. p. 569–575.
- BAMIDELE, O. P.; EMMAMBUX, M. N. Encapsulation of bioactive compounds by “extrusion” technologies: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–19, 2020.
- BATTERMAN-AZCONA, S. J.; LAWTON, J. W.; HAMAKER, B. R. Effect of specific mechanical energy on protein bodies and  $\alpha$ -zeins in corn flour extrudates. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 2, p. 316–320, 1999.
- BORSARELLI, C. D.; MERCADANTE, A. Z. Thermal and photochemical degradation of carotenoids. In: LANDRUM, J. T. (Ed.). **Carotenoids physical, chemical, and biological functions and properties**. 2009. p. 229–253.
- BRENT, J. L. et al. Thermomechanical glass transition of extruded cereal melts. **Journal of Cereal Science**, v. 26, n. 3, p. 301–312, 1997.
- BULÉON, A. et al. Starch granules: Structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, n. 2, p. 85–112, 1998.
- CHENG, H.; HANSEN, J. H. Extrudate expansion model in a twin-screw extrusion cooking process considering melt rheological property. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 4, p. 604–611, 2016.

- CHINNASWAMY, R.; HANNA, M. A. Optimum Extrusion-Cooking Conditions for Maximum Expansion of Corn Starch. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 3, p. 834–836, 1988.
- CORTÉS, R. N. F.; GUZMÁN, I. V.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Effects of Some Extrusion Variables on Physicochemical Characteristics of Extruded Corn Starch-passion Fruit Pulp (*Passiflora edulis*) Snacks. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 4, p. 365–371, 2014.
- CUETO, M. et al. Carotenoid and color changes in traditionally flaked and extruded products. **Food Chemistry**, v. 229, p. 640–645, 2017.
- DING, Q. B. et al. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-based expanded snacks. **Journal of Food Engineering**, v. 66, n. 3, p. 283–289, 2005.
- GODAVARTI, S.; KARWE, M. V. Determination of specific mechanical energy distribution on a twin-screw extruder. **Journal of Agricultural and Engineering Research**, v. 67, n. 4, p. 277–287, 1997.
- GUJRAL, H. S.; SINGH, N.; SINGH, B. Extrusion behaviour of grits from flint and sweet corn. **Food Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 303–308, 2001.
- ILO, S.; BERGHOFER, E. Kinetics of colour changes during extrusion cooking of maize grits. **Journal of Food Engineering**, v. 39, n. 1, p. 73–80, 1999.
- KAISANGSRI, N. et al. Carrot pomace enhances the expansion and nutritional quality of corn starch extrudates. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 391–399, 2016.
- KAUR, G. J. et al. Optimization of extrusion parameters for development of ready-to-eat breakfast cereal using RSM. **Asian Journal of Dairy and Food Research**, v. 33, n. 2, p. 77, 2014.
- LAZOU, A.; KROKIDA, M. Thermal characterisation of corn-lentil extruded snacks. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1625–1633, 2011.
- MARTY, C.; BERSET, C. Factors Affecting the Thermal Degradation of all-trans- $\beta$ -Carotene. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 4, p. 1063–1067, 1990.
- MENDOZA-DÍAZ, S. et al. Antioxidant Capacity and Antimutagenic Activity of Anthocyanin and Carotenoid Extracts from Nixtamalized Pigmented Creole Maize Races (*Zea mays* L.). **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 4, p. 442–449, 2012.
- MOROS, E. E. et al. Analysis of xanthophylls in corn by HPLC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5787–5790, 2002.



ORTAK, M. et al. Changes in functional properties and in vitro bioaccessibilities of  $\beta$ -carotene and lutein after extrusion processing. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3543–3551, 2017.

ORTIZ-CRUZ, R. A. et al. Effect of Extrusion Processing Conditions on the Phenolic Compound Content and Antioxidant Capacity of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Bran. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, n. 2, p. 252–257, 2020.

ORTIZ, D. et al. Carotenoid Stability during Dry Milling, Storage, and Extrusion Processing of Biofortified Maize Genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 18, p. 4683–4691, 2018.

PARDHI, S. D. et al. Evaluation of functional properties of extruded snacks developed from brown rice grits by using response surface methodology. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 18, n. 1, p. 7–16, 2019.

ROBUTTI, J. et al. Endosperm properties and extrusion cooking behavior of maize cultivars. **LWT - Food Science and Technology**, v. 35, n. 8, p. 663–669, 2002.

ROSALES, A. et al. Effect of Traditional and Extrusion Nixtamalization on Carotenoid Retention in Tortillas Made from Provitamin A Biofortified Maize (*Zea mays* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 44, p. 8289–8295, 2016.

THYMI, S. et al. Structural properties of extruded corn starch. **Journal of Food Engineering**, v. 68, n. 4, p. 519–526, 2005.

VALENZUELA-LAGARDA, J. L. et al. Relationships between morphometrical properties and the texture of an extrusion-expanded snack made from squid mantle (*Dosidicus gigas*). **Journal of Texture Studies**, v. 49, n. 5, p. 476–484, 2018.

YING, D. Y. et al. The format of  $\beta$ -carotene delivery affects its stability during extrusion. **LWT**, v. 60, n. 1, p. 1–7, 2015.

## CONCLUSION GERAL

Tem sido constatado, que o processo de extrusão, utilizado em diversas manufaturas industriais, principalmente alimentos, têm sido responsáveis de significativas inovações, permitindo a disponibilidade de produtos de conveniência nas diversas áreas. A produção de expandidos derivados de milho, praticado a muitas décadas, contribuiu à introdução de diversos tipos de alimentos disponíveis nas prateleiras dos mercados.

Nesse sentido, esse crescimento tem sido atribuído ao avanço do conhecimento dos diversos aspectos relacionados, por um lado, à matéria prima, por outro, a tipos de equipamentos e suas nuances e, finalmente ao adequado uso dos diferentes aspectos relacionados à produção, onde se combinam características, tipos, de materiais a serem usados com os diferentes parâmetros de produção.

No **Capítulo I**, uma revisão bibliográfica, são abordados temas relacionados a estes aspectos, onde se consideram tópicos sobre equipamentos de extrusão, configurações e parâmetros de processo, de forma a encontrar possíveis explicações dos diferentes fenômenos que ocorrem durante a extrusão. Parte das características responsáveis pelas mudanças estão relacionadas com a matéria prima, que na maioria dos casos, para expandidos, possuem altos teores de amido. Este biopolímero, disponível em diferentes fontes, com ou sem variações da proporção amilose/amilopectina e efeitos que produzem quando submetidos ao calor. Além disso, aborda-se técnicas de caracterização, como por exemplo, o uso da microscopia, estereoscópio e de varredura (MEV) para estudar a microtextura e os efeitos nos produtos antes e depois de processados; o uso de HPLC, na determinação do perfil de carotenoides; uso da eletroforese, na intenção de verificar o efeito da extrusão nas bandas proteicas bem como as mudanças ocorridas por ocasião do processo térmico. Temas que permitem corroborar os diferentes resultados conseguidos neste trabalho de Tese.

No **Capítulo II**, que trata dos efeitos causados pela umidade e temperatura de processamento por extrusão nos expandidos de *grits* de milho, o qual permite concluir que a umidade foi o parâmetro de maior impacto sobre as propriedades físicas, químicas e microestruturais nos expandidos derivados do *grits* de milho, sendo que menores teores de umidade de processamento (> 15%) e altas temperaturas < 160 °C provocam maiores taxas de cisalhamento e esforço mecânico transformando profundamente o complexo amido-proteína-lipídio.

No **Capítulo III**, que trata das mudanças no teor de carotenoides contidos no *grits* de milho por ocasião das variações nos parâmetros umidade e temperatura de processamento. Foi concluído que o coeficiente de interação  $\beta_{112}$  relacionado com a umidade de alimentação (*FM*) e a temperatura do barril (*BT*) provocaram as mudanças nos carotenoides totais, luteína, zeaxantina e  $\beta$ -caroteno. Os coeficientes quadráticos também permitiram verificar importantes mudanças na cor total (em relação à umidade do processamento), e para  $\beta$ -criptoxantina, energia mecânica específica e índice de expansão volumétrica (em relação à temperatura do barril). A  $\beta$ -criptoxantina e o  $\beta$ -caroteno aumentaram, enquanto a luteína e a zeaxantina diminuíram.

## **ANEXOS**

## **Anexo A. Material complementar do Capítulo II**

### **1 Morfologia do grão Milho**

#### **1.1 Preparação do grão de milho**

Para a visualização da morfologia interna do grão de milho foram utilizadas placas de aglomerado de madeira ( $8,5 \times 4,5 \times 0,1$  cm), lixas de metal com grãos 245, 1200 e 2500. E escovas de cerdas.

O grão foi colocado horizontalmente na placa de lixa e foi lixado manualmente de forma circular, tentando manter a superfície de atrito horizontalmente. Foram feitas visualizações periódicas da proximidade da área horizontal média do grão, até que os diferentes tecidos fossem claramente observados. A seguir, a superfície foi cuidadosamente polida, de forma circular lisa com o uso de lixas 1200, 2000 e 2500.

#### **1.2 Microestrutura de tecidos de grão de milho**

Para a obtenção da imagem, para a visualização microestrutural dos tecidos internos (plano horizontal médio) do grão de milho foi utilizado um estéreo-microscópio Discovery M12-Zeiss, com software AXION e uma câmera Axiocam, acoplada ao corpo do equipamento.

A amostra do grão de milho foi colocada na área de observação do estereoscópio, para garantir a visualização horizontal de toda a superfície com o auxílio de resíduos de papel branco sob os diferentes pontos de apoio para atingir a área objetiva com o maior grau de horizontalidade da ordem para evitar distorção da imagem.

## Anexo B. Material complementário do Capítulo III

### Material and methods

#### Feed material and proximal composition

Normal maize grits were donated by the *Granfino* company (Nova Iguaçu, RJ, Brazil). The particle-size distribution was performed with a RO-TAP RX-29-10 sieve agitator (WS Tyler, St. Albans) (ASABE, 2008). The chemical composition of grits was performed using standardized methods of the (AOAC, 2005): 925.09 for moisture content, 945.38 for fat content, 2001.11 for nitrogen content, 923.03 method for ash content, and the enzymatic method 985.29 for dietary fiber content.

#### Extrusion process

A single-screw extruder (Brabender 19/20 DN, Duisburg, Germany) was used. The screw attached to the barrel had a 5:1 compression ratio. The last zone of the extruder was a horizontal rod die electrically heated, and the cylindrical die at the tip of the horizontal rod die, had a 3 mm in diameter and 14.3 mm in length. The temperature profile was 50 °C, 100 °C, and the last zone was varied at three levels (120, 140, and 160 °C) according to the experimental design (Table 1). The screw speed of the feeder and extruder were set at 17 and 150 rpm, respectively. Portions of 600 g of maize grits by each trial were moistened at three levels (13, 15, and 17%) according to the experimental design (Table 1) using equation (1) (VARGAS-SOLÓRZANO et al., 2020).

$$W = G \left( \frac{M_f - M_g}{100 - M_f} \right) \dots \dots \dots (1)$$

Where  $W$  is the amount of water to be added,  $G$  is the mass of grits to be moistened, and  $M_g$  is the initial moisture of the grits, determined in duplicate by the oven method at 130 °C for 1 h (AACC, 1983).  $M_f$  is the feed moisture, fixed according to the levels of Table 1. The mixing of grits and water was manually carried out in plastic bags of high density. The mixture was vigorously shaken in a circular form to facilitate the uniform diffusion of water and to reduce the formation of agglomerates. The moistened grits were stored for 12 h at 4 °C, until the beginning of the process. The samples were fed to the extruder previously heated to the temperature profile in random order. The recording of the temperatures in each zone, the screw speed of the extruder, and the torque, were monitored with the Brabender extruder program for Windows WINEXT, version 4.4.0 (Brabender, Duisburg, Germany). The cooling of the extruder zones was done manually with compressed air. The extrusion trials were carried out on different days for each temperature in the last zone, to guarantee better control of the process temperature and its effect on the response variables. Within each processing day, the extruder previously heated to the temperature profile was started with a sample of normal maize grits moistened to approximately 20% (wet basis). Once torque was stabilized, the grits moistened

to the fixed feed moisture (in duplicate) were fed in random order. The expanded extrudates were collected manually in plastic trays (60 cm × 30 cm × 10 cm) placed below the die extruder. During the collection of extrudates, they were cut as strips of about 40 cm and stored at room temperature.

**Physicochemical properties**

**Specific mechanical energy**

The specific mechanical energy (*SME*), was determined with equation (2) (FAN et al. 1996).

$$SME = \frac{T(2\pi SS)n}{\dot{m}_e} \dots \dots \dots (2)$$

Were *T* is the torque (N.m) recorded at the time of collection, *SS* is the screw speed which was kept constant at 150 rpm, *n* is the number of screws (for a single screw extruder, *n* = 1), and  $\dot{m}_e$  is the mass flow rate of extrudate, determined in duplicate, by collecting an amount of extrudate during 30 s.

**Total color change**

The total color change ( $\Delta E$ ) was calculated in quadruplicate, by the reflectance method using a Quest XE color equipment, CIELAB scale, with 1 mm diameter aperture, with illuminant D65/10 (PATHARE et al. 2012). The measured color parameters were: L\* (luminosity, 0 = black and 100 = white); a\* (- 80 to 0 = green, from 0 to + 100 = red; b\* (- 100 to 0 = blue, from 0 to + 70 = yellow). Then,  $\Delta E$  was calculated with equation (3) (PATHARE et al. 2012).

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \dots \dots \dots (3)$$

Where the subscript 0 corresponds to the color value of the grits before the process (particle size < 600 μm). The extruded samples were pieces of 5 cm in length placed horizontally in the capsule of measurement of the equipment, to guarantee greater exhibition area of the sample. The capsule was coated with a black cap with central perforation for the passage of the beam for color reading.

**Volumetric expansion index**

The volumetric expansion index (*VEI*) was performed using 30 pieces of extrudates by each trial. The extrudate pieces approximately had 10 cm in length and were placed in high-density plastic bags, closed and packed in rigid plastic tubes with a screw cap. The samples

were stored in a clean, dry, and dark environment, until the beginning of the determination.  $VEI$  was measured with equation (4) (ALVAREZ-MARTINEZ et al. 1988).

$$VEI = \left(\frac{\rho_m}{\rho_e}\right) \left(\frac{100 - M_m}{100 - M_e}\right) \dots \dots \dots (4)$$

Where  $\rho_m$  and  $\rho_e$  are densities of the melt and extrudate respectively, and  $M_m$  and  $M_e$  are the moistures (wet basis) of the melt and extrudate, respectively.  $\rho_m$  was considered as the solid density of the feed material, measured in duplicate using a gas pycnometer system AccuPyc II 1340 (Micromeritics, Norcross, USA), using helium as displacement medium.  $\rho_e$  was measured considering the extrudate volume as a cylinder of approximately 10 cm length (FAN et al. 1996).  $M_m$  was considered as the feed moisture and  $M_e$  was measured in duplicate with the oven method (AACC, 1983).

#### Extrudate structure

Scanned images of sectional view and longitudinal views (internal and external) were performed using a perfection office scanner 1240U Epson (Seiko, Nagano-ken, Japan). For each trial in Table 1, sectional and longitudinal cuts of extrudates were prepared manually and placed on a rectangular area of 6 × 3 cm. The image capture was performed with the PhotoFiltre image editor software, according to the following parameters: Exposure 3, gamma 1, highlight 200, shadow 24 (TAN et al. 1994).

#### Crispness work

Crispness work ( $W_c$ ) was measured according to the puncturing test (CORTÉS et al. 2014), using a texture analyzer TAXT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) with a load cell of 50 kg, and a cylindrical probe of 2 mm. The trigger force was set to 0.196 N, and the probe punctured the samples in three equidistant areas along the length extrudate, at a speed of 1 mm/s until 50% of the extrudate radius. The extruded samples for the  $VEI$  determination (15 pieces) were used to evaluate  $W_c$ . The moisture of the extrudates was standardized to 4% (wet basis), using a laboratory tray dryer SL102 (SOLAB, São Paulo, Brazil) at 70 °C. The established moisture was achieved by weight loss using an analytical balance. The samples with the standardized moisture were stored in a desiccator with silica gel, until the beginning of the analysis.  $W_c$  was measured with equation (5) (BOUVIER et al. 1997).

$$W_c = \frac{F_p}{N_{sr}} \dots \dots \dots (5)$$

Where  $F_p$  is the average puncturing force (N) and  $N_{sr}$  is the spatial frequency of structural ruptures (1/mm).

## Total carotenoids and carotenoid profile

Samples before and after the extrusion process were stored in airtight aluminum packages, and then ground in an analytical mill A11 Basic (IKA Works Inc., North Carolina, USA). The samples with particle-size between 106–212  $\mu\text{m}$  were packed in amber glass bottles of 20 g capacity, with plastic lid under pressure and kept in a clean, dry, and dark environment. The carotenoid extraction was performed according to a microscale extraction with acetone and purified in a solution of 5 % ethyl ether in petroleum ether. The quantification of total carotenoids (*TCA*) was determined by molecular spectrophotometry and the carotenoid profile (lutein (*LUT*), zeaxanthin (*ZEA*),  $\beta$ -cryptoxanthin ( *$\beta$ CR*), and  $\beta$ -carotene ( *$\beta$ CA*)) by high-performance liquid chromatography (HPLC) in reversed-phase.

### Microscale extraction

In a 2 mL microcentrifuge tube, 0.1 g of sample (grits or extrudate) was weighed, and then 1 mL of acetone was added. The suspension was mixed using a microturrax for 30 s. The suspension was centrifuged at 6339 $\times$ g for 1 min and the separated acetone extract (supernatant) was quantitatively transferred to a 25 mL burette, containing 5 mL of solution of 5 % ethyl ether in petroleum ether. Then, the extraction procedure was repeated on the residue of the centrifuge tube (pellet), with 500  $\mu\text{L}$  of acetone. The extraction was continued until total depletion (extract colorless) using 3 to 4 portions of 500 mL acetone. The acetone extract collected in the burette and diluted in the petroleum ether solution, was washed with ultrapure water during 3 min, then it was decanted. The washing procedure was repeated until the washing water turns colorless. The volume of washed ether extract was recorded (up to second decimal number), then 1 mL was transferred to the spectrophotometer cuvette, and its absorbance was measured at 450 nm using a spectrophotometer UV-1800 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) (PACHECO et al., 2014). The quantification of *TCA* was calculated with equation (6) (DE CARVALHO et al., 2012).

$$TCA \left( \frac{\mu\text{g}}{100 \text{ g}} \right) = \frac{A \times V \times 10^2}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times m} \dots \dots \dots (6)$$

where *A* is absorbance, *V* is the total extract volume (in mL),  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  is the  $\beta$ -carotene extinction coefficient in petroleum ether (2592), and *m* is the sample mass (in g).

### HPLC Analysis

2 mL of washed ether extract were dried in an amber flask under nitrogen flow. The dry residual sample was diluted in 100  $\mu\text{L}$  of acetone using a vortex mixer, and then transferred to a 2 mL amber flask for HPLC analysis (DE CARVALHO et al., 2012). The carotenoid profile was determined in a Waters<sup>TM</sup> HPLC system, controlled by the Empower software program. The sample injection volume was 15  $\mu\text{L}$  of acetone extract. The stationary phase was a  $C_{30}$  column (S-3 Carotenoid, 4.6 mm  $\times$  250 mm, YCM<sup>TM</sup>), and the column oven was set at 33  $^{\circ}\text{C}$ .



The mobile phase was a mixture of methanol (ME) and methyl tert-butyl ether (MBE). The elution was set at a flow rate of 0.8 mL.min<sup>-1</sup>, and its composition (ME-MBE, %) was varied using the following gradient program: 0 min (80-20), 0.5 min (75-25), 15 min (15-85), 15.05 min (10-90), 16.50 min (10-90), 16.55 min (80-20), 28 min (80-20). The carotenoids separated were identified through a photodiode array detector (PDA), based on their retention times and UV/Vis absorption spectra, compared to the retention times of the carotenoid standards (PACHECO et al., 2014), as shown in the chromatograms of the supplementary figure (Fig. S1). The quantification of individual carotenoids was calculated with equation (7) (DE CARVALHO et al., 2012).

$$\text{Carotenoid} \left( \frac{\mu\text{g}}{100 \text{ g}} \right) = \frac{A_x \times C_s \times V \times 10^2}{A_s \times m} \dots \dots \dots (7)$$

where  $A_x$  is the carotenoid peak area,  $C_s$  is the standard concentration (in  $\mu\text{g/mL}$ ),  $V$  is the total extract volume (in mL),  $A_s$  is the standard area, and  $m$  is the sample mass (in g).

**Changes in carotenoid content**

Changes in total and individual carotenoid content ( $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ , db) described in Table 1, were calculated with equation (8).

$$\Delta \text{ Carotenoids} = (\text{Carotenoids in the extrudate}) - (\text{Carotenoids in the grits}) \dots (8)$$

The observed differences (positive or negative values) were interpreted as increase or decrease in the carotenoid contents after extrusion, respectively.

**Design of the experiment and statistical analysis**

A 3<sup>2</sup> factorial design with two replicates was used. The independent variables (factors) were feed moisture ( $FM$ ) and barrel temperature in the last zone ( $BT$ ). The levels for  $FM$  were 13, 15 and 17% (wet basis) and for  $BT$  were 120, 140, and 160 °C. The responses evaluated were:  $SME$ ,  $\Delta E$ ,  $VEI$ ,  $W_c$ , and changes in carotenoid content (Table 1). Because the statistical design had three levels and both factors were quantitative, a quartic model with interactions (equation 9) was tested to interpret the behavior of each response in terms of the independent variables studied.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 FM + \beta_{11} FM^2 + \beta_2 BT + \beta_{22} BT^2 + \beta_{12} FMBT + \beta_{122} FMBT^2 + \beta_{112} FM^2 BT + \beta_{1122} FM^2 BT^2 (9)$$

Where  $Y$  is the predicted response ( $SME$ ,  $\Delta E$ ,  $VEI$ ,  $W_c$ , and changes in carotenoid content),  $\beta_i$  the coefficients of the equation, and the factors in coded levels:  $FM$  and  $BT$  the main effects,  $FM^2$  and  $BT^2$  the quadratic effects, and the linear and quadratic combinations the interaction effects. The statistical significance of each term in equation (9) was determined by prioritizing the regression analysis at 5% and 1%, in such a way that the  $R^2$  was maximized and

the lack of fit in the ANOVA must be non-significant. These procedures were performed using the STATISTICA software version 12.0 (StatSoft, Tulsa, USA). Response surface plots were generated for the adjusted models with  $R^2 > 0.70$  (MONTGOMERY, 2013), as presented in Table 2. All cross-correlations between the physicochemical properties responses were also assessed. The levels of *FM* and *BT* that maximize or minimize a response and its corresponding predicted response, were obtained by the GRG nonlinear method provided in the Solver add-in of Microsoft Excel. The initial value for the calculations was set at the center of the explored domain.

## References

AACC. **American Association of Cereals Chemists. Approved Methods of the AACC**, The Association. St. Paul, Mc., 1983.

ALVAREZ-MARTINEZ, L.; KONDIRY, K. P.; HARPER, J. M. A General Model for Expansion of Extruded Products. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 609–615, 1 mar. 1988.

ASABE. **Method of determining and expressing fineness of feed materials by sieving** Michigan, United States American Society of Agricultural and Biological Engineers, , 2008.

AOAC. **Official Methods of Analysis**(18th ed.). Gaithersburg: AOAC International., 2005.

BOUVIER, J. M.; BONNEVILLE, R.; GOULLIEUX, A. Instrumental methods for the measurement of extrudate crispness. **Agro Food Industry Hi-tech**, v. 8, n. 1, p. 16–19, 1997.

CORTÉS, R. N. F.; GUZMÁN, I. V.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Effects of Some Extrusion Variables on Physicochemical Characteristics of Extruded Corn Starch-passion Fruit Pulp (*Passiflora edulis*) Snacks. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 4, p. 365–371, 2014.

DE CARVALHO, L. M. J. et al. Total carotenoid content,  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. **Food Research International**, v. 47, n. 2, p. 337–340, 1 jul. 2012.

FAN, J.; MITCHELL, J. R.; BLANSHARD, J. M. V. The effect of sugars on the extrusion of maize grits: I. The role of the glass transition in determining product density and shape. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 55–65, 1 fev. 1996.

MONTGOMERY, D. C. Introduction to factorial designs. In: **Montgomery DC (ed) Design and Analysis of Experiments**. 8. ed. Hoboken: Wiley, 2013. p. 183–232.

PACHECO, S. et al. Microscale extraction method for HPLC carotenoid analysis in vegetable

matrices. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 416–419, 1 set. 2014.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A.-J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology** **2012 6:1**, v. 6, n. 1, p. 36–60, 11 maio 2012.

TAN, J.; GAO, X.; HSIEH, F. Extrudate Characterization by Image Processing. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 6, p. 1247–1250, 1 nov. 1994.

VARGAS-SOLÓRZANO, J. W. et al. Impact of the Pretreatment of Grains on the Interparticle Porosity of Feed Material and the Torque Supplied During the Extrusion of Brown Rice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 1, p. 88–100, 1 jan. 2020.

## **Anexo C: Adequação de extrudados para a determinação de índices de expansão**

### ***Preparação da placa de lixar para snacks extrudados***

Para obter maior precisão na determinação dos índices de expansão longitudinal (*IEL*) e índice de expansão volumétrica (*IEV*) dos expandidos, foi construída duas placas de aglomerado de madeira 17 x 8,5 x 0,5 cm, e foi colado com cola Boxer, uma lixa metálica de 14 x 6 cm (245  $\mu\text{m}$  e num outro aglomerado de 1200  $\mu\text{m}$ ), garantindo uma superfície extremamente lisa que alterassem a uniformidade das superfícies a serem lixadas.

### ***Preparação de peças extrudadas para lixar superfícies verticais***

Foram confeccionadas 13 peças de extrudados de aproximadamente 10,5 cm de longitude por tratamento, de acordo com o delineamento experimental. Para o corte se utilizou um bisturi e um paquímetro digital para as medições do diâmetro. A seguir, as superfícies verticais foram lixadas manualmente com a de lixa de 245  $\mu\text{m}$ , posicionando-as na vertical de forma a não distorcer a horizontalidade das mesmas, evitando, assim, alterar o peso da amostra. Em seguida, utilizou-se uma lixa de 1200  $\mu\text{m}$  para polir as superfícies, limpando-as com uma escova fina para retirar os resíduos de poeira das bolhas de ar.

### ***Medição do diâmetro do expandido***

Para cada amostra expandida, foram determinados três pontos de medição dos diâmetros: meio (metade, 5 cm) e meio (2,5 cm) direito e esquerdo, totalizando três medidas por amostra. Por fim, as amostras preparadas foram pesadas individualmente em balança analítica (especificação) e armazenadas em sacos plásticos de alta densidade e armazenadas no ambiente em caixa plástica rígida com tampa em local limpo, seco e ventilado.