

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

Uso de Fitases e do Processo de Extrusão Termoplástica na Produção de Farinhas Pré-Gelatinizadas de Sorgo com Baixo Teor de Ácido Fítico

Gaspar Dias Monteiro Ramos

2012



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

**USO DE FITASES E DO PROCESSO DE EXTRUSÃO
TERMOPLÁSTICA NA PRODUÇÃO DE FARINHAS PRÉ-
GELATINIZADAS DE SORGO COM BAIXO TEOR DE ÁCIDO FÍTICO**

GASPAR DIAS MONTEIRO RAMOS

Sob a Orientação do Professor
Jose Luis Ramirez Ascheri

e Co-orientação da Professora
Sonia Couri

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

Seropédica, RJ
Maio de 2012

664

R175u

T

Ramos, Gaspar Dias Monteiro, 1981-
 Uso de fitases e do processo de
 extrusão termoplástica na produção
 de farinhas pré-gelatinizadas de
 sorgo com baixo teor de ácido fítico
/ Gaspar Dias Monteiro Ramos - 2012.
 135 f. : il.

 Orientador: Jose Luis Ramirez
 Ascheri.

 Tese (doutorado) - Universidade
 Federal Rural do Rio de Janeiro,
 Curso de Pós-Graduação em Ciência e
 Tecnologia de Alimentos.

 Bibliografia: f. 97-109.

 1. Tecnologia de alimentos -
 Teses. 2. Sorgo - Teses. 3.
 Fermentação - Teses. I. Ascheri,
 Jose Luis Ramirez, 1955-. II.
 Universidade Federal Rural do Rio
 de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
 em Ciência e Tecnologia de
 Alimentos. III. Título.

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

GASPAR DIAS MONTEIRO RAMOS

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

Tese aprovada em 04/05/2012

José Luis Ramirez Ascheri (D.Sc.) Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Orientador)

Carlos Wanderlei Piler de Carvalho (Ph.D.) Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Membro)

Cristina Yoshie Takeiti (D.Sc.) Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Membro)

Lucinéia Gomes da Silva (D.Sc.) IFRJ
(Membro)

Mônica Caraméz Triches Damaso (D.Sc.) Embrapa Agroenergia
(Membro)

DEDICATÓRIA

A Deus por ser tudo na minha vida e pelo seu amor sempre me amparando, mesmo quando
tudo parece ser impossível.

A minha amada esposa Fernanda,
Pelo amor, dedicação, compreensão, companheirismo, amizade e constante participação e
incentivo na minha realização pessoal e profissional.

Aos meus pais,
Exemplos de amor e carinho e por abdicarem de seus sonhos em prol dos
meus.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado força e literalmente me guiado para chegar até aqui e não abandonar a jornada frente a tantas dificuldades encontradas. Obrigado meu Deus pelo exemplo de seu Filho amado nosso Senhor Jesus Cristo que jamais desistiu da jornada que o fora confiada.

A todos aqueles que participaram de forma direta e indireta para que esta tese pudesse acontecer e que se eu fosse mencionar os nomes poderia esquecer de alguém mas não desmereceria o mérito pela ajuda. Assim a todos que participaram dessa etapa da minha jornada na vida o meu sincero muito obrigado.

As instituições que colaboraram para a realização do doutorado: UFRuralRJ, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Embrapa Milho e Sorgo, CEFET/RJ-Núcleo Avançado de Valença e CAPES.

BIOGRAFIA

GASPAR DIAS MONTEIRO RAMOS, filho de Gaspar Monteiro Ramos e Olívia Dias Ramos, nasceu dia 15 de agosto de 1981, na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro.

Ingressou no curso de Engenharia de Alimentos em março de 2001 na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, concluindo este no ano de 2005.

Estagiou no Laboratório Analítico de Alimentos e Bebidas (LAAB), do Departamento de Tecnologia de Alimentos - UFRRJ, no período de abril de 2003 a fevereiro de 2006, tendo desenvolvido atividades de pesquisa na área de Controle Físico e Químico de Alimentos e Bebidas.

Em março de 2006, ingressou no Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, com área de concentração em Ciências de Alimentos, trabalhando com Qualidade de Água, concluindo este no ano de 2008.

Iniciou a atuação como professor substituto nas disciplinas de Tecnologia de Produtos Agropecuários e Controle de Qualidade de Produtos Agropecuários na UFRRJ no período de abril de 2007 a dezembro de 2008.

Em março de 2008, ingressou no Curso de Doutorado em Ciência e Tecnologia de alimentos da UFRRJ, com área de concentração em Tecnologia de Alimentos, trabalhando com tecnologia enzimática e de extrusão termoplástica.

Em agosto de 2010, iniciou a atuação como professor efetivo do CEFET-RJ/Núcleo Avançado de Valença do curso de agroindústria.

RESUMO

RAMOS, Gaspar Dias Monteiro. **Uso de fitases e do processo de extrusão termoplástica na produção de farinhas pré-gelatinizadas de sorgo com baixo teor de ácido fítico.** 2012. 135p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

O ácido fítico ou fitato é considerado fator antinutricional por complexar-se aos outros minerais tais como ferro, zinco, cálcio, magnésio, no trato gastrointestinal, tornando-os menos disponíveis para a absorção. O objetivo deste trabalho foi elaborar uma farinha pré-cozida de sorgo com baixo teor de fitato pelo processo combinado de tratamento enzimático e extrusão. A cinética de produção da fitase foi realizada por fermentação em estado sólido utilizando a linhagem mutante *Aspergillus niger* 11T53A9 e como matéria-prima a okara, resíduo do processamento da soja. Para o estudo da estabilidade, o extrato enzimático produzido foi armazenado sob refrigeração e congelamento, durante seis meses. No estudo da cinética de hidrólise do ácido fítico, a farinha de sorgo foi umedecida com o extrato enzimático Embrapa e comercial, na concentração de 400 e 800 U de fitase/kg de farinha. Realizou-se processamentos por extrusão nas farinhas de sorgo integral tratadas com as fitases comercial e Embrapa e sem tratamento enzimático. Para o processo de extrusão estabeleceu-se um delineamento do tipo central composto rotacional de 2ª ordem para analisar o efeito combinado das variáveis (umidade e temperatura) nas variáveis respostas dos extrudados. A composição centesimal e o teor de ácido fítico (% em base seca) do sorgo integral foi: proteínas 12,3; lipídeos 3,9; cinzas 1,8; carboidratos 82,0 e ácido fítico 1,03. Os teores de minerais, expressos em mg/100g em base seca, foram: sódio 2,06; potássio 382,28, magnésio 171,85; cálcio 14,05; manganês 2,02; ferro 4,16; zinco 2,8; cobre 0,17 e fósforo 400,71. E, os teores de aminoácidos, expressos em g/100g em base seca, foram: glicina+serina 0,98; histidina 0,25; arginina 0,38; treonina 0,41; tirosina 0,44; valina 0,54; lisina 0,57; isoleucina 0,45; leucina 1,61; fenilalanina 0,55 e triptofano 0,10. A maior produção de atividade fitásica de *Aspergillus niger* 11T53A9 foi aproximadamente 0,6U/mL de extrato, em 72 h de fermentação, e ocorreu associada ao crescimento do fungo. A fitase produzida foi eficiente na redução do teor de ácido fítico em farinha de sorgo integral, e teve melhor desempenho que a enzima comercial utilizada, além disso apresentou estabilidade tanto a temperatura de aplicação industrial quanto ao armazenamento. O processo de extrusão termoplástica não foi suficiente para reduzir o teor de ácido fítico e nem mesmo quando combinado com o tratamento enzimático. O tratamento enzimático e o processo de extrusão termoplástica não provocaram grandes variações na composição centesimal, minerais e aminoácidos da farinha de sorgo integral. Esses processos podem ser considerados boas alternativas para a produção de farinha de sorgo integral pré-cozida com baixo teor de ácido fítico.

Palavras-chave: fitato, fermentação em estado sólido, sorgo

ABSTRACT

RAMOS, Gaspar Dias Monteiro. **Use of phytase and thermoplastic extrusion process in the production of pre-gelatinized sorghum flour with low-phytic acid**. 2012. 135p. Thesis (Ph.D. in Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

Phytic acid or phytate is an anti-nutritional factor, which is complexes them minerals such as iron, zinc, calcium, magnesium, in the gastrointestinal tract making them less available for absorption. The aim of this study was to prepare a pre-cooked sorghum flour with low phytate content by combining enzymatic treatment and extrusion. The kinetics of phytase production was performed by solid state fermentation, it was used *Aspergillus niger* 11T53A9 mutant and okara as substrate, that is residue of soybean processing. For stability study of the enzyme, it was stored under refrigeration and freezing for six months. In the kinetics study of hydrolysis of the phytic acid, the sorghum flour was moistened with Embrapa and commercial enzyme extract at a concentration of 400 and 800 U of phytase/kg of flour. It was carried extrusion processing in the whole sorghum flour treated with commercial and Embrapa phytase, and also in flour without enzyme treatment. For extrusion process, it was established a rotational composite central design of second order to analyze the combined effect of variables (moisture and temperature) in the responses variable of extruded. The chemical composition and phytic acid content (% dry basis) of whole sorghum was: protein 12.3, lipid 3.9, ash 1.8, carbohydrates 82.0 and phytic acid 1.03. The mineral contents, expressed in mg/100g in dry basis, were: sodium 2.06, potassium 382.28, magnesium 171.85, calcium 14.05, manganese 2.02, iron 4.16, zinc 2.8, copper 0.17 and phosphorus 400.71. And, the amino acid contents, expressed in g/100g in dry base, were: glycine + serine 0.98, histidine 0.25, arginine 0.38, threonine 0.41, tyrosine 0.44, valine 0.54, lysine 0.57, isoleucine 0.45, leucina 1.61, phenylalanine 0.55 and tryptophan 0.10. The largest production of phytase activity of *Aspergillus niger* 11T53A9 was approximately 0.6 U/ml of extract, in 72h of fermentation, it was associated with the growth of the fungus. Phytase produced was effective in reducing the phytic acid content in whole sorghum flour, and it was better than the commercial enzyme. In addition it was stable at the temperature both to industrial application as storage. The thermoplastic extrusion process was not sufficient to reduce the phytic acid content and not even when combined with the enzymatic treatment. The enzymatic treatment and thermoplastic extrusion process not caused wide variations in composition, minerals and amino acids of the whole sorghum flour. These processes can be considered good alternatives for the production of pre-cooked whole sorghum flour with low-phytic acid.

Keywords: Phytate, solid state fermentation, sorghum

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Pesquisas efetuadas por diferentes autores sobre a produção de fitase por diferentes microrganismos | 09 |
| Tabela 2. Principais alimentos e bebidas a base de sorgo | 35 |
| Tabela 3. Níveis das variáveis independentes do experimento referente ao 1º e 2º Bloco | 44 |
| Tabela 4. Delineamento completo do desenho experimental para farinha de sorgo tratada enzimaticamente com enzima comercial (1º Bloco) e enzima Embrapa (2º Bloco) | 44 |
| Tabela 5. Índice de expansão radial (IER) dos extrudados de farinha de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) | 54 |
| Tabela 6. Média dos resultados de IER do ponto central dos extrudados de farinha de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) | 55 |
| Tabela 7. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 56 |
| Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) para a variável resposta índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 56 |
| Tabela 9. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 58 |
| Tabela 10. Análise de variância (ANOVA) para a variável resposta índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 58 |
| Tabela 11. Índice de solubilidade em água (ISA) e índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas | 60 |
| Tabela 12. Média dos resultados de ISA e IAA do ponto central das farinhas | 60 |

extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático)

- Tabela 13.** Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de solubilidade em água (ISA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) 61
- Tabela 14.** Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de solubilidade em água (ISA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) 62
- Tabela 15.** Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) 63
- Tabela 16.** Análise de variância (ANOVA) para a variável resposta índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial, em função da temperatura (X1) e umidade (X2) 63
- Tabela 17.** Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) 66
- Tabela 18.** Viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas 67
- Tabela 19.** Média dos resultados de Viscosidade de Pasta Inicial a 25°C (VI25), Viscosidade de Pasta Máxima a 95°C (VMáx) e Viscosidade de Pasta Final (VF) do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) 70
- Tabela 20.** Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta inicial a 25°C (VI25) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) 72
- Tabela 21.** Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta inicial a 25°C (VI25) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em 73

função da temperatura (X1) e umidade (X2)

| | |
|---|----|
| Tabela 22. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta máxima a 95°C (VMáx) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 74 |
| Tabela 23. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta máxima a 95°C (VMáx) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 74 |
| Tabela 24. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta final (VF) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 75 |
| Tabela 25. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta final (VF) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 76 |
| Tabela 26. Teor de ácido fítico das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas | 76 |
| Tabela 27. Média dos resultados do teor de ácido fítico do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) | 77 |
| Tabela 28. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao teor de ácido fítico das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 78 |
| Tabela 29. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao teor de ácido fítico das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X1) e umidade (X2) | 78 |
| Tabela 30. Composição química do sorgo de alto e baixo tanino (na matéria natural) | 85 |
| Tabela 31. Perfil de aminoácidos no sorgo de alto e baixo tanino (na matéria natural) | 85 |
| Tabela 32. Composição centesimal (% em base seca) do sorgo (matéria-prima), | 90 |

sorgo tratado com enzima comercial (matéria-prima do bloco 1), sorgo tratado com enzima Embrapa (matéria-prima do bloco 2) e amostras extrudadas de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima)

Tabela 33. Teor dos minerais (mg/100g em base seca) do sorgo (matéria-prima), sorgo tratado com enzima comercial (matéria-prima do bloco 1), sorgo tratado com enzima Embrapa (matéria-prima do bloco 2) e amostras extrudadas de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima) 91

Tabela 34. Perfil de aminoácidos (g/100g em base seca) do sorgo (matéria-prima), sorgo tratado com enzima comercial (matéria-prima do bloco 1), sorgo tratado com enzima Embrapa (matéria-prima do bloco 2) e amostras extrudadas de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima) 93

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Estrutura molecular do ácido fítico | 06 |
| Figura 2. Hidrólise do fítato por fitase em inositol, fosfato e elementos divalentes | 07 |
| Figura 3. <i>Aspergillus niger</i> | 10 |
| Figura 4. Biorreator de coluna de escala laboratorial: várias colunas imersas em um banho-maria para controle de temperatura | 11 |
| Figura 5. Exemplificação de FES (a) e FSm (b) em escala de laboratório | 12 |
| Figura 6. a. Sistema para FES em colunas de vidro com aeração e temperatura controladas, b. Colunas após fermentação | 16 |
| Figura 7. a. Grãos de sorgo, b. Moinho de disco Laboratory Mill 3600, Perten (Suécia) | 18 |
| Figura 8. Banho-maria com agitação, modelo 50, Precision Scientific (Chicago, EUA) | 18 |
| Figura 9. Agitador de peneiras RO-TAP, modelo RX-29-10 (Mentor, EUA) | 19 |
| Figura 10. Teor de glicosamina e perfil cinético da produção de fitase no extrato enzimático em FES | 20 |
| Figura 11. Estabilidade da fitase no extrato enzimático sob condições de refrigeração e congelamento | 22 |
| Figura 12. Estabilidade da fitase no extrato enzimático sob aquecimento a 50°C | 23 |
| Figura 13. Perfil cinético da hidrólise enzimática (enzima Embrapa) na farinha de sorgo com concentração da fitase de 0 (controle), 400 e 800 U/kg de farinha | 24 |
| Figura 14. Classificação granulométrica da farinha de sorgo após moagem em moinho de disco para tratamento enzimático | 26 |
| Figura 15. Perfil cinético da hidrólise enzimática (enzima comercial) na farinha de sorgo com concentração da fitase de 0 (controle), 400 e 800 U/kg de farinha | 27 |
| Figura 16. Estrutura do grão de sorgo | 33 |
| Figura 17. Lavoura de sorgo granífero | 34 |
| Figura 18. Maiores produtores mundiais de sorgo | 36 |
| Figura 19. Esquema básico de uma extrusora monorosca | 38 |
| Figura 20. Diagrama de blocos das etapas da metodologia para elaboração de farinha com baixo teor de fítato | 42 |
| Figura 21. Fermentador Drive Assembly, modelo FS-414, marca New Brunswick Scientific (Nova Jersey, EUA) | 46 |
| Figura 22. a. Secador adiabático com ventilação forçada, tipo cabine, b. Farinha peneirada usando peneira de 12 mesh (1700µm) | 47 |
| Figura 23. Extrusora monorosca, modelo DSE-20DN, Brabender (Duisburg, Alemanha) | 48 |

| | |
|--|----|
| Figura 24. Extrudado coletado em bandejas | 49 |
| Figura 25. “Rapid Visco Analyser” (RVA), RVA-4, Newport Scientific Pty. Ltd. (Sidney, Austrália) | 51 |
| Figura 26. Classificação granulométrica das matérias-primas submetidas ao processo de extrusão termoplástica: farinhas de sorgo sem tratamento enzimático (controle), tratada com enzima comercial e tratada com enzima Embrapa | 53 |
| Figura 27. Efeito das variáveis quantitativas temperatura (°C) e umidade (%) no índice de expansão radial dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial | 57 |
| Figura 28. Efeito das variáveis quantitativas temperatura (°C) e umidade (%) no Índice de expansão radial dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa | 59 |
| Figura 29. Efeito das variáveis quantitativas temperatura (°C) e umidade (%) no índice de absorção de água das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial | 65 |
| Figura 30. Curvas de viscosidade de pasta das matérias-primas usadas no processo de extrusão termoplástica referentes aos blocos 1, 2 e 3 | 67 |
| Figura 31. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas dos blocos 1, 2 e 3 referentes as médias dos tratamentos dos respectivos pontos centrais (140°C, 16% umidade) | 69 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| INTRODUÇÃO GERAL | 01 |
| CAPÍTULO I | 02 |
| CINÉTICA DA PRODUÇÃO DE FITASE POR <i>Aspergillus niger</i> 11T53A9 EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO, ESTUDO DA ESTABILIDADE DO EXTRATO ENZIMÁTICO E CINÉTICA DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA EM SORGO | |
| RESUMO | 03 |
| ABSTRACT | 04 |
| 1.1.1 INTRODUÇÃO | 05 |
| 1.1.1 Objetivos | 05 |
| 1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 06 |
| 1.2.1 Ácido Fítico | 06 |
| 1.2.2 Fitase | 08 |
| 1.2.3 <i>Aspergillus</i> | 10 |
| 1.2.4 Fermentação em Estado Sólido | 11 |
| 1.2.5 Aplicação de Fitases | 13 |
| 1.3 MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 1.3.1 Cinética da Produção da Fitase Embrapa por Fermentação em Estado Sólido | 15 |
| 1.3.1.1 Preparo do inóculo | 15 |
| 1.3.1.2 Cinética da produção da fitase Embrapa | 15 |
| 1.3.1.3 Diálise | 16 |
| 1.3.2 Estudo da Estabilidade da Fitase Embrapa ao Armazenamento | 16 |
| 1.3.3 Estudo da Estabilidade da Fitase Embrapa à Temperatura de Aplicação | 16 |
| 1.3.4 Determinação do Crescimento Microbiano | 17 |
| 1.3.5 Determinação da Atividade Fitásica | 17 |
| 1.3.6 Cinética de Hidrólise Enzimática na Farinha de Sorgo Integral | 17 |
| 1.3.7 Determinação do Teor de Ácido Fítico | 18 |
| 1.3.8 Classificação Granulométrica | 19 |
| 1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 20 |
| 1.4.1 Cinética da Produção da Fitase | 20 |
| 1.4.2 Estabilidade da Fitase Embrapa à Temperatura de Armazenamento | 21 |
| 1.4.3 Estabilidade da Fitase Embrapa ao Tempo de Incubação | 22 |
| 1.4.4 Cinética de Hidrólise Enzimática na Farinha de Sorgo com a Fitase Embrapa | 23 |
| 1.4.5 Cinética de Hidrólise Enzimática na Farinha de Sorgo com a Fitase Comercial | 26 |
| 1.5 CONCLUSÃO | 28 |
| CAPÍTULO II | 29 |
| USO DE FITASES E DO PROCESSO DE EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA NA PRODUÇÃO DE FARINHAS PRÉ-COZIDAS DE SORGO COM BAIXO TEOR DE ÁCIDO FÍTICO | |
| RESUMO | 30 |

| | |
|---|-----------|
| ABSTRACT | 31 |
| 2.1 INTRODUÇÃO | 32 |
| 2.1.1 Objetivos | 32 |
| 2.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 33 |
| 2.2.1 Sorgo | 33 |
| 2.2.2 Extrusão Termoplástica | 37 |
| 2.2.2.1 Descrição do processo de extrusão | 38 |
| 2.2.2.2 Amido e o processo de extrusão termoplástica | 39 |
| 2.2.2.3 Farinhas e o processo de extrusão termoplástica | 40 |
| 2.3 MATERIAL E MÉTODOS | 42 |
| 2.3.1 Delineamento Experimental | 42 |
| 2.3.2 Produção da Enzima Fitase para Aplicação na Farinha de Sorgo Integral | 45 |
| 2.3.3 Tratamento Enzimático na Elaboração da Farinha de Sorgo Integral | 45 |
| 2.3.3.1 Obtenção da farinha de sorgo integral | 45 |
| 2.3.3.2 Tratamento enzimático da farinha de sorgo integral | 45 |
| 2.3.4 Processamento por Extrusão: elaboração da farinha de sorgo integral pré-cozida após tratamento enzimático | 47 |
| 2.3.5 Classificação Granulométrica | 49 |
| 2.3.6 Avaliação Física dos Extrudados quanto ao Índice de Expansão Radial (IER) | 49 |
| 2.3.7 Avaliação Físico-Química da Matéria-Prima, das Farinhas Tratadas por Enzimas e Pré-Cozidas por Extrusão | 50 |
| 2.3.7.1 Determinação da concentração do ácido fítico | 50 |
| 2.3.7.2 Determinação do índice de solubilidade em água (ISA) e índice de absorção de água (IAA) | 50 |
| 2.3.7.3 Determinação da viscosidade de pasta | 51 |
| 2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 53 |
| 2.4.1 Classificação Granulométrica | 53 |
| 2.4.2 Índice de Expansão Radial (IER) | 54 |
| 2.4.3 Índice de Solubilidade em Água (ISA) e Índice de Absorção de Água (IAA) das Farinhas de Sorgo Integral | 59 |
| 2.4.4 Viscosidade de Pasta das Farinhas de Sorgo Integral | 66 |
| 2.4.5 Teor de Ácido Fítico das Farinhas de Sorgo Integral | 76 |
| 2.5 CONCLUSÃO | 79 |
| CAPÍTULO III | 80 |
| CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MATÉRIA-PRIMA CRUA, HIDROLISADA ENZIMATICAMENTE E DAS FARINHAS EXTRUDADAS DE SORGO | |
| RESUMO | 81 |
| ABSTRACT | 82 |
| 3.1 INTRODUÇÃO | 83 |
| 3.1.1 Objetivos | 83 |
| 3.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 84 |
| 3.2.1 Composição Química do Sorgo | 84 |
| 3.3 MATERIAL E MÉTODOS | 88 |
| 3.3.1 Composição Centesimal | 88 |
| 3.3.2 Minerais | 88 |

| | | |
|--------------|-----------------------------------|------------|
| 3.3.3 | Perfil de Aminoácidos | 88 |
| 3.4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 90 |
| 3.4.1 | Composição Centesimal | 90 |
| 3.4.2 | Minerais | 91 |
| 3.4.3 | Perfil de Aminoácidos | 92 |
| 3.5 | CONCLUSÃO | 95 |
| | CONCLUSÃO FINAL | 96 |
| | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 96 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 97 |
| | ANEXOS | 110 |

INTRODUÇÃO GERAL

Fitases (mio-inositol hexaquisfosfato fosfohidrolase) são enzimas capazes de hidrolisar a molécula de ácido fítico (mio-inositol hexaquisfosfato) liberando o fosfato. O ácido fítico é a maior fonte de reserva de fosfato nas sementes, sendo considerado um fator antinutricional por complexar-se aos outros minerais tais como ferro, zinco, cálcio, magnésio, no trato gastrointestinal, tornando-os menos disponíveis para a absorção. Técnicas de redução do fitato que envolvem ação enzimática são as que mais favorecem a redução do ácido fítico através das fitases. Essas enzimas são ativadas e/ou sintetizadas durante a germinação, a fermentação e o remolho das sementes. Outra alternativa para amenizar o problema é o uso de fitase exógena.

O sorgo é uma boa fonte de energia, fibras, minerais e vitaminas do complexo B. O seu cultivo e consumo são importantes em países que estão em desenvolvimento e que tenham problemas de déficit hídrico durante o ano. No Brasil, este grão é praticamente utilizado na produção de rações, já em países da África e Ásia o sorgo é bastante utilizado na produção de farinha, pães, biscoitos e bebidas alcoólicas. A utilização do sorgo integral como alimento humano apresenta algumas limitações devido a fatores antinutricionais, como o ácido fítico.

A extrusão termoplástica é considerada um processo capaz de reduzir fatores antinutricionais, melhorar a digestibilidade, promover alterações nas propriedades físicas em alimentos extrudados e aumentar a vida de prateleira dos alimentos.

A aplicação de fitase e processo de extrusão no sorgo podem favorecer a obtenção de produtos com maior valor nutricional, benéfico à saúde, além de promover mudanças favoráveis nas características físicas das farinhas. Com isso, aumentaria o uso do sorgo para alimentação humana. O aumento do consumo de sorgo traz outros benefícios, pois tem custo de produção menor e é mais resistente à seca do que outras culturas.

O objetivo geral foi à obtenção de farinha pré-cozida de sorgo com baixo teor de fitato pelo processo combinado de tratamento enzimático e extrusão. Esta proposta é inédita uma vez que não existem, na literatura consultada, estudos sobre o emprego de extrusão termoplástica em farinhas previamente tratadas com fitase exógena de *Aspergillus niger* 11T53A9.

No Capítulo I são abordados aspectos da produção da fitase utilizando uma linhagem de *Aspergillus niger* em fermentação em estado sólido utilizando okara como matéria-prima da fermentação. Realizou-se o estudo da estabilidade da fitase nas temperaturas de armazenamento e de aplicação industrial. Também foi feita a cinética da hidrólise do ácido fítico presente na farinha de sorgo utilizando a enzima fitase produzida na Embrapa e outra comercial.

O Capítulo II descreve o estudo da extrusão termoplástica da farinha de sorgo tratada enzimaticamente. Neste estudo foram testadas amostras tratadas com as enzimas Embrapa, com a comercial e farinha sem tratamento enzimático (controle). Devido a grande utilização de enzima em ração animal e a carência de estudos em alimentos para humanos, a produção de uma farinha pré-cozida por extrusão e com baixo teor de ácido fítico foi objetivo principal neste capítulo.

O último capítulo trata da análise de composição centesimal, perfil de aminoácidos e minerais da matéria prima, da farinha de sorgo tratada enzimaticamente e de algumas farinhas extrudadas selecionadas com e sem tratamento enzimático. O objetivo principal deste capítulo foi verificar se os processos de extrusão termoplástica e de tratamento enzimático influenciaram os teores dos componentes analisados nas farinhas.

Assim, buscou-se avaliar se o trabalho termomecânico combinado com o tratamento enzimático consegue reduzir o teor de ácido fítico no sorgo.

CAPÍTULO I

CINÉTICA DA PRODUÇÃO DE FITASE POR *Aspergillus niger* 11T53A9 EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO, ESTUDO DA ESTABILIDADE DO EXTRATO ENZIMÁTICO E CINÉTICA DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA EM SORGO

RESUMO

A fitase (mio-inositol hexaquisfosfato fosfohidrolase) catalisa a hidrólise do ácido fítico (mio-inositol hexaquisfosfato) à inositol e fosfatos. O ácido fítico é a principal forma de armazenamento de fosfatos em sementes, mas pode ser considerado fator antinutricional por complexar-se com minerais e proteínas tornando-os menos disponíveis para a absorção. O presente trabalho teve por objetivos avaliar a produção de fitase por *Aspergillus niger* 11T53A9; a estabilidade da fitase submetida às temperaturas de aplicação industrial (50°C) e, durante o armazenamento sob refrigeração (3,6°C) e congelamento (-16°C); e a cinética de hidrólise do ácido fítico presente na farinha de sorgo utilizando uma enzima fitase produzida laboratorialmente (Embrapa) e outra comercial. A linhagem *Aspergillus niger* 11T53A9 foi inoculada com 10^7 conídeos/g de meio de okara (resíduo da soja). O meio de fermentação foi umidificado com solução de uréia a 60% em relação a massa seca de okara. Os meios inoculados foram submetidos à fermentação em colunas de vidro com aeração controlada de 1,0 vvm em banho a 30°C e retirados nos tempos 0, 24, 42, 48, 66, 72, 90, 96 e 114 horas. Foram feitas análises de glicosamina para avaliar o crescimento do fungo e de atividade fitásica. Para o estudo da estabilidade, o extrato bruto produzido conforme descrito anteriormente, mas com tempo de fermentação fixo de 72 horas, foi armazenado sob refrigeração a 3,6°C ($\pm 2,0$) e sob congelamento a -16,0°C ($\pm 2,5$), durante 6 meses. Para a estabilidade a temperatura de aplicação industrial, o extrato foi avaliado a 50°C durante 32 horas. Por último, no estudo da cinética de hidrólise, a farinha de sorgo foi umedecida com o extrato enzimático Embrapa e comercial, na concentração enzimática de 400 e 800 U de fitase/kg de farinha, e determinou-se o teor de ácido fítico nos diferentes tempos de reação 0, 1, 2, 3, 4 e 6 horas. A produção da fitase ocorreu associada ao crescimento do fungo. A maior produção de atividade fitásica de *A. niger* 11T53A9 foi aproximadamente 0,6U/mL de extrato, em 72 h de fermentação. A fitase se manteve estável a 3,6°C e -16°C durante 6 meses. Na temperatura de 50°C, manteve 86% de sua atividade após 24 horas. O tratamento enzimático da farinha de sorgo com 400 e 800U/kg da fitase de *A. niger* 11T53A9 foi capaz de hidrolisar 88 e 93% do ácido fítico presente na farinha de sorgo, reduzindo-o drasticamente nos tempos de 4 e 3 horas, respectivamente, enquanto que o efeito da enzima comercial, nas mesmas concentrações, foi de 57,6 e 59,4% em 6 horas de hidrólise. Portanto, a fitase de *A. niger* 11T53A9, obtida neste trabalho, apresentou melhor desempenho que a enzima comercial nas condições estudadas.

Palavras-chave: fitase, ácido fítico, estabilidade, sorgo

ABSTRACT

Phytase (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase) catalyzes the hydrolysis of phytic acid (myo-inositol hexakisphosphate) to inositol and phosphate. Acid phytic is the principal storage form of phosphate in seeds, but may be considered anti-nutritional factor by complexing with minerals and proteins making it less available for absorption. This study aimed to evaluate the production of phytase by *Aspergillus niger* 11T53A9; stability of phytase subjected to temperatures of industrial application (50°C) and during storage under refrigeration (3.6°C) and freezing (-16°C); and the kinetics of hydrolysis of the phytic acid present in sorghum flour using a laboratory-produced phytase (Embrapa) and another commercial. The *Aspergillus niger* 11T53A9 strain was inoculated with 10⁷ conidia/g of okara (soybean residue). The fermentation medium was moistured with a solution of urea to 60% by dry weight of okara. The inoculated media were subjected to fermentation in glass columns with aeration controlled of 1.0 vvm in a bath at 30°C, and it was removed at 0, 24, 42, 48, 66, 72, 90, 96 and 114 hours. It was conducted analyses of glucosamine to evaluate growth of the fungus and phytase activity. For study the stability of the produced extract as described above, but with fixed fermentation time of 72 hours, it was stored under refrigerated at 3.6°C (± 2.0) and freezing at -16.0°C (± 2.5) for 6 months. For the temperature stability of industrial application, the extract was measured at 50°C for 32 hours. Finally, in the study of the kinetics of hydrolysis, the sorghum flour was moistured with the Embrapa and commercial enzyme extract using concentration of 400 and 800 U phytase/kg of flour, and it was determined the phytic acid content in different reaction times 0, 1, 2, 3, 4 and 6 hours. The phytase production was associated with the growth of the fungus. The largest production of phytase activity of *Aspergillus niger* 11T53A9 was approximately 0.6 U/ml of extract, in 72h of fermentation. The enzyme was stable at 3.6°C and -16°C for 6 months. It retained 86% of its activity after 24 hours at 50°C. The enzymatic treatment of the sorghum flour with 400 and 800 U/kg of phytase from *A. niger* 11T53A9 was capable of hydrolyzing 88 and 93% of the phytic acid present in sorghum flour, reducing drastically the time at 4 and 3 hours, respectively, while the effect of commercial enzyme using same concentrations was of 57.6 and 59.4% at 6 hours of hydrolysis. Therefore, the phytase from *A. niger* 11T53A9, obtained in this work, showed better performance than the commercial enzyme in the studied conditions.

Keywords: phytase, phytic acid, stability, sorghum

1.1 INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos busca atender uma exigência crescente do mercado consumidor criando alternativas frente as necessidades dos consumidores do mundo moderno. O uso de enzimas alimentares representa um mercado mundial em expansão, esse fato pode ser atribuído a alta especificidade das enzimas, o que as torna produtos de grande interesse. Uma das estratégias utilizadas pelas indústrias alimentícias é o emprego de enzimas exógenas, as quais possuem uma gama de funções, principalmente no que se refere à disponibilização de algumas substâncias e eliminação de substâncias tóxicas.

A fitase catalisa a hidrólise do ácido fítico formando inositóis com menor número de grupamentos fosfato. O ácido fítico ou fitato, principal forma de armazenamento de fosfatos em sementes, é considerado um fator antinutricional por complexar-se à minerais tais como ferro, zinco, cálcio, magnésio, no trato gastrointestinal, tornando-os menos disponíveis para a absorção (CHERYAN, 1980; REDDY et al., 1982). A utilização de enzimas exógenas pode melhorar a digestão e absorção de ingredientes reduzindo os efeitos antinutricionais, sendo assim, o uso da fitase exógena é uma alternativa para aumentar o valor nutricional de muitos alimentos vegetais.

A fitase pode ser produzida por microrganismos como fungos filamentosos, bactérias, leveduras, e por alguns microrganismos do rúmen e do solo (SEBASTIAN et al., 1998). A fitase produzida por *Aspergillus niger* tem sido muito utilizada em rações de aves e suínos. Porém a utilização destas na alimentação humana ainda é incipiente quando comparada ao emprego em rações animais. Segundo Pandey (2008) os processos de fermentação em estado sólido vêm utilizando, como fontes de carbono e energia, resíduos agroindustriais sendo uma alternativa econômica para produção de compostos de valor agregado como enzimas. As fitases são, portanto, uma nova perspectiva para a obtenção de farinhas com baixo teor de ácido fítico, de grande interesse industrial, por apresentarem alta especificidade em relação aos substratos.

1.1.1 Objetivos

- Produzir um extrato enzimático com atividade fitase em condições previamente selecionadas por fermentação em estado sólido (FES) utilizando a linhagem *Aspergillus niger* 11T53A9;
- Verificar a estabilidade da atividade fitase nas temperaturas de armazenamento e na de aplicação industrial;
- Determinar a cinética da hidrólise do ácido fítico presente na farinha de sorgo utilizando as enzimas fitase produzida laboratorialmente (Embrapa) e uma comercial.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 Ácido Fítico

O ácido fítico ou fitato (mio-inositol hexaquisfosfato), Figura 1, é um complexo orgânico (uma molécula de inositol ligado a seis grupos fosfato) que ocorre naturalmente nas plantas, formando uma variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes e, de acordo com Consuegro (1999), é uma das formas pelas quais as plantas armazenam nutrientes para seu uso durante a germinação.

Alimentos de origem vegetal apresentam baixos níveis de fósforo livre e baixa disponibilidade desse mineral (FURUYA et al., 2001). O ácido fítico ou fitato é a principal forma de armazenamento de fosfatos em sementes (REDDY et al., 1982) e cerca de 50 a 90% de seu total de fósforo está na forma de ácido fítico (NOLAN; DUFFIN 1987). A presença de determinados fatores na dieta promove ou impede a absorção de minerais. O fitato contido na soja, no trigo, no sorgo, no arroz, e na ervilha usados como ingredientes alimentícios e/ou para ração animal é considerado um fator antinutricional por complexar-se à minerais tais como ferro, zinco, cálcio, magnésio, no trato gastrointestinal, tornando-os menos disponíveis para a absorção (CHERYAN, 1980; REDDY et al., 1982).

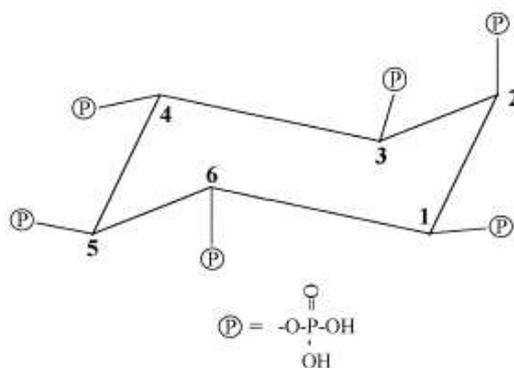


Figura 1. Estrutura molecular do ácido fítico (HOWSON; DAVIS, 1983).

Animais monogástricos, como aves, suínos e o próprio homem, ao consumirem cereais que contêm fosfato na forma de fósforo fítico, não o utilizam por causa da baixa atividade ou ausência de atividade de fitase intestinal (WODZINSKI; ULLAH, 1996). No intestino de vários animais a enzima fitase está presente, porém sua atividade não é suficiente para promover a utilização do ácido fítico provindo da dieta (HAN, 1988).

O fósforo é essencial para todas as formas de vida na Terra, não apresentando efeitos tóxicos conhecidos. A principal preocupação associada ao fósforo no ambiente seria seu efeito na eutrofização de ecossistemas aquáticos (SCHAEFER et al., 2000).

A digestão e o aproveitamento do alimento podem ser aumentados pela adição de enzimas na alimentação, como por exemplo, pela adição da fitase microbiana. A função das fitases é realizar a hidrólise do fitato em inositol e fosfato inorgânico (Figura 2). Desta forma, parte do fósforo, antes não disponível, passa a ser aproveitado pelo organismo (CHRISTENSEN, 1995).

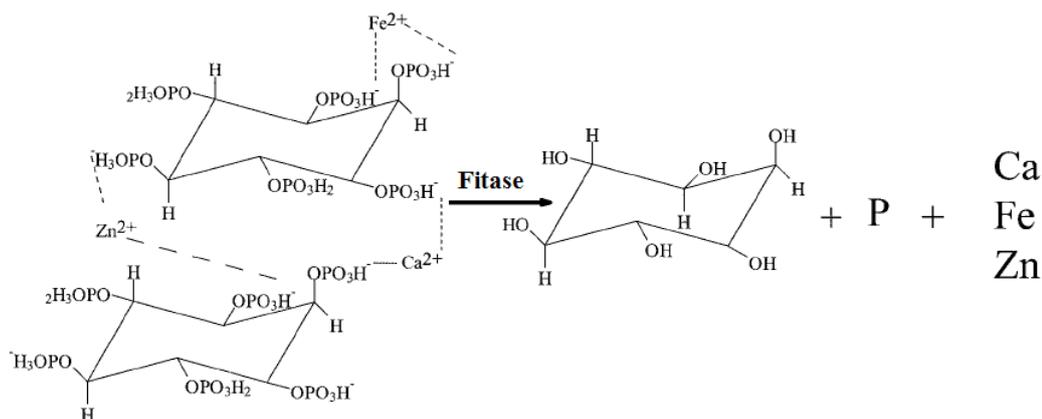


Figura 2. Hidrólise do fítrato por fitase em inositol, fosfato e elementos divalentes (LEI; PORRES, 2003).

Durante a estocagem, fermentação, germinação, processamento e digestão dos grãos e sementes, o ácido fítico pode ser parcialmente desfosforilado para produzir compostos penta-fosfato (IP5), tetra-fosfato (IP4), tri-fosfato (IP3) e, possivelmente inositol difosfato (IP2) e mono-fosfato (IP1), por ação de fitases endógenas (BURBANO et al., 1995; ZHOU; ERDMAN, 1995). Somente IP5 e IP6 têm efeito negativo na biodisponibilidade de minerais. Os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou os complexos formados são mais solúveis (SANDBERG et al., 1989).

A formação de complexos entre os fitatos e minerais é influenciada pelo pH, concentração e presença de outros minerais (WYATT; TRIANA-TEJAS, 1994). O ácido fítico encontra-se carregado negativamente nos alimentos sob condições naturais, o que lhe confere alto potencial para complexação com moléculas carregadas positivamente como cátions e proteínas, podendo alterar a digestibilidade e absorção destes nutrientes (CHERYAN, 1980). Entretanto, o ácido fítico pode formar complexos com proteínas em pH ácido ou alcalino, desde que, as proteínas estejam abaixo ou acima do pH isoelétrico (REDDY et al., 1982).

Siqueira et al. (2007) avaliaram a biodisponibilidade de cálcio, ferro e zinco nas dietas vegetarianas e onívoras, servidas no Restaurante Universitário da Universidade de Brasília e relataram que devido ao teor de Ca e Fe nas refeições onívora e vegetariana analisadas, a presença de fitato parece não representar risco de deficiência desses minerais para indivíduos que se alimentam diariamente no restaurante, entretanto, o baixo teor de Zn, em ambas as refeições, almoço e jantar, juntamente com a presença do fitato, proveniente principalmente do feijão e da soja, podem representar um risco de deficiência de Zn, principalmente para adultos vegetarianos. Também observaram que devido a presença constante do feijão na dieta nacional, o monitoramento dos teores de fitato e de minerais dietéticos deve ser estimulado, em busca do adequado balanço entre eles, visando garantir o fornecimento adequado de minerais. Em dietas com reduzido teor de minerais, o processamento dos alimentos, sobretudo com aplicação de fitase exógena, fermentação ou germinação, capazes de reduzir o teor de fitato, devem ser empregados no preparo dos alimentos, visando a aumentar a biodisponibilidade dos minerais.

Proll et al. (1998) determinaram o valor biológico de sementes tropicais da Nigéria como fonte de proteína em ratos em crescimento. Verificaram que a energia digestível das diferentes dietas variou substancialmente e correlacionou negativamente com a massa fecal e ao teor de ácido fítico das sementes. Para sementes de *Adansonia digitata* (conhecida como baobá) que contém maior teor de ácido fítico e energia digestível mais baixa, resultou na

produção quatro vezes maior de fezes comparado ao grupo de ratos alimentados com caseína acrescida de metionina (grupo controle).

Frontela et al. (2008) realizaram uma revisão de artigos publicados nos últimos anos estudando as implicações do ácido fítico sobre a saúde humana, assim como a possibilidade de utilização de determinadas fitases na nutrição humana. Concluíram que a aplicação de fitase no processamento de alimentos pode favorecer a obtenção de produtos com maior valor nutricional, benéfico à saúde, mantendo suas propriedades organolépticas.

Várias técnicas têm sido utilizadas para diminuir o fitato das sementes, dentre elas, a cocção dos grãos, autoclavagem, extrusão, o remolho das sementes, germinação e fermentação. O aquecimento de leguminosas por cocção e autoclavagem, indicou que estas técnicas não são eficientes na diminuição dos níveis de fitato nestes grãos (TRUGO et al., 2000). Kumar et al. (1978) tentaram extrair o fitato, usando a cocção com água e o nível de extração foi muito baixo. Então, adicionou-se ácido clorídrico à água de cocção e, a extração do fitato diminuiu. O baixo nível de extração foi atribuído à formação de complexos insolúveis entre o fitato e outros componentes das leguminosas (REDDY et al., 1978).

Os trabalhos científicos mais abundantes desenvolvidos neste sentido têm indicado que os tratamentos mais efetivos em diminuir o fitato de grãos de cereais e leguminosas são aqueles que utilizam o processo enzimático: a germinação e a fermentação. Na germinação, o ácido fítico é degradado pela fitase endógena produzida durante o processo, enquanto que na fermentação, microrganismos são capazes de produzir fitases e excretá-las para o meio externo, embora alguns microrganismos também produzam fitases que permanecem ligadas à célula. Além disso, têm-se verificado que esses processos melhoram a qualidade nutricional dos grãos (REDDY; LOVE, 1999; TRUGO et al., 2000; VOHRA; SATYANARAYANA, 2003).

1.2.2 Fitase

Enzimas são proteínas que catalisam reações químicas de síntese ou degradação no metabolismo animal, não sofrendo alteração durante o processo (CHAMPE, 1989). As enzimas exógenas atuam da mesma forma que as endógenas atuando sobre um substrato específico e hidrolisando-o desde que estejam sob condições favoráveis de temperatura, umidade e pH (PENZ Jr., 1998).

Fosfatases são enzimas que hidrolisam ésteres fosfatos e são amplamente distribuídas na natureza. A fitase (mio-inositol hexaquisfosfato fosfohidrolase) é uma fosfatase específica que pode ser distinta quanto à posição de ataque na molécula de ácido fítico. As fitases podem ser agrupadas de acordo com a posição em que a desfosforilação ocorre no anel mio-inositol. Dependendo de qual carbono do anel a desfosforilação é iniciada as fitases são agrupadas em: 3-fitase (mio-inositol hexaquisfosfato 3-fosfohidrolase, EC 3.1.3.8) que inicia hidrolisando o fitato na posição C3 e 6-fitase (mio-inositol hexaquisfosfato 6-fosfohidrolase, EC 3.1.3.26) a qual realiza a hidrólise na posição C6, sendo que a 3-fitase é principalmente de origem microbiana e 6-fitase é derivada de plantas (YAO et al., 2011).

A fitase pode ser produzida por microrganismos como fungos filamentosos (gênero *Aspergillus*, principalmente os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus ficuum*) bactérias (*Pseudomonas* e *Bacillus subtilis*), leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), e por alguns microrganismos do rúmen e do solo (SEBASTIAN et al., 1998). Também está amplamente distribuída nos tecidos animais e vegetais, mas segundo Han (1988) apesar da enzima fitase estar presente no intestino de vários animais sua atividade não é suficiente para promover a hidrólise do ácido fítico oriundo da dieta.

Diversos autores têm pesquisado a produção de fitase através do uso de diferentes microrganismos (Tabela1).

Tabela 1. Pesquisas efetuadas por diferentes autores sobre a produção de fitase por diferentes microrganismos.

| Referências | Microrganismo - fitase |
|-----------------------------|--|
| Quan et al., 2001 | <i>Candida krusei</i> |
| Miksch et al., 2002 | <i>Escherichia coli</i> |
| Bogar et al., 2003 | Cepas de <i>Mucor e Rhizopus</i> em FES com resíduos agroindustriais |
| Greiner, 2004 | <i>Pantoea agglomerans</i> |
| Ramachandran et al., 2005 | Cepas <i>Rhizopus</i> em FES em substrato misto |
| Singh e Satyanarayana, 2006 | <i>Sporotrichum thermophile</i> em FES |
| Hussin et al., 2007 | Bactérias isoladas do solo |
| Singh e Satyanarayana, 2008 | <i>Sporotrichum thermophile</i> em FSm |
| In et al., 2009 | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em FSm |
| Javed et al., 2010 | Diferentes culturas de fungos termófilos em FES |
| Rani e Ghosh, 2011 | <i>Rhizopus oryzae</i> em FES |

Greiner et al. (2009) verificaram que a fitase extracelular de *Aspergillus niger* 11T53A9 purificada possui uma característica de glicosilação e comportou-se como uma proteína monomérica com uma massa molecular de aproximadamente 85kDa. Exibiu máxima atividade de hidrólise do fitato em pH 5,0, temperatura ótima de hidrólise a 55°C e apresentou estabilidade relativamente alta em condições ácidas sem perder qualquer atividade na faixa de pH 3,0-8,0 por 14 dias a 4°C. O fitato de sódio foi identificado como um bom substrato, cujos parâmetros cinéticos para a hidrólise deste foram $K_M=54\mu\text{mol L}^{-1}$ e $k_{\text{cat}} = 190 \text{ s}^{-1}$ em pH 5,0 a 37°C. A enzima purificada foi específica para desfosforilação do mio-inositol hexaquisfosfato pela hidrólise sequencial de grupos fosfato via D-Ins(1,2,4,5,6)P₅, D-Ins(1,2,5,6)P₄, D-Ins(1,2,6)P₃, D-Ins(1,2)P₂ para finalmente Ins(2)P, considerando esta fitase como 3-fitase (GREINER et al., 2009).

Segundo Eeckhoout e De Paepe (1994), que analisaram a atividade de fitase em mais de 50 alimentos, somente o centeio, triticale, trigo e cevada são ricos em fitase, enquanto que o milho, aveia, sorgo e sementes de oleaginosas contêm pouca ou nada dessa enzima.

A fitase microbiana é muito mais potente e estável em uma faixa de pH maior do que a fitase que ocorre nas plantas, sendo a sua atividade expressa em unidades de fitase (U ou FTU). Segundo Engelen et al. (1994), uma unidade de fitase em FTU é definida como sendo a quantidade de enzima que libera 1 μmol de ortofosfato inorgânico por minuto a partir de 0,0051mol L⁻¹ de fitato de sódio em pH 5,5 a 37°C. Sua atividade máxima, segundo Jongbloed et al. (1992), ocorre no estômago e na porção inicial do intestino delgado.

Existem diversas fitases microbianas disponíveis no mercado para emprego em rações animais. A empresa BASF foi a primeira a produzir e comercializar a enzima Natuphos (primeira fitase comercial produzida por *Aspergillus niger*) (ENGELLEN et al., 1994; SELLE; RAVINDRAN, 2006). Essas enzimas são usadas principalmente em rações e têm como função hidrolisar o fitato e aumentar a concentração de fosfato nas rações e/ou ingredientes alimentícios, aumentando a absorção desse mineral, além dos outros os quais o fitato se complexa impedindo sua absorção, e assim diminuindo a excreção desses minerais. A contaminação dos mananciais pelo fósforo, principalmente nos locais de criação extensiva de suínos, bovinos, etc., gera problemas ambientais. Pois, o excesso de fósforo no solo e nas águas produz um efeito negativo nos ecossistemas, resultando na eutrofização dos mananciais, com crescimento de algas, redução de oxigênio da água e morte de peixes e outros organismos. O impacto ambiental é tão negativo que resultou em rigorosa legislação ambiental restritiva à pecuária, havendo redução do rebanho suinícola na Holanda e

fechamento ou transferência para outros estados de dezenas de produtores da Flórida, EUA (SILVA, 2002).

1.2.3 *Aspergillus*

Fungos do gênero *Aspergillus* são os fungos filamentosos mais comuns e os mais estudados, além de serem amplamente empregados para produção de enzimas extracelulares em escala industrial (SCHUSTER et al., 2002).

Esse gênero é o mais comum dos fungos filamentosos, podendo ser encontrado no ar, água, solo, matéria orgânica em decomposição, bem como nos animais e vegetais. Muitas espécies de *Aspergillus* são utilizadas para obtenção de enzimas na biossíntese e transformação de compostos (ROSA et al., 2002). A cor é a característica principal para a identificação macroscópica de grupos neste gênero. Existem diferentes tons de verde, marrom, amarelo, branco, cinza e preto (KOZAKIEWICZ, 1989).

Em escala industrial as fitases são produzidas por microrganismos através de processos fermentativos. O gênero *Aspergillus*, com destaque para a espécie *Aspergillus niger*, produzem as fitases de maior interesse comercial (MULLANEY; ULLAH, 2003; VATS; BANERJEE, 2004).

A. niger (Figura 3) é um fungo filamentoso negro, aeróbio, comumente denominado como “mofo negro” (WAINWRIGHT, 1995). As colônias são brancas a amarelo pálido, mas rapidamente formam-se milhares de conídios (esporos) negros, as hifas são finas e septadas (McDONALD, 2002).

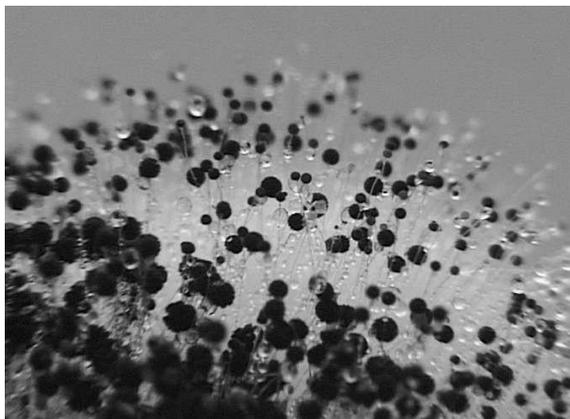


Figura 3. *Aspergillus niger* (FAO, 2012).

Segundo Vries (2003) *Aspergillus niger* desperta interesse de pesquisas de biotecnologia para produção de enzimas, pois:

- São capazes de secretar níveis elevados de proteínas;
- Apresentam boas propriedades de fermentação que permite a produção de enzimas em larga escala;
- Vários produtos deste fungo são considerados “GRAS” “generally regarded as safe” (geralmente considerado como seguro) pela FAO (United States Food and Drug Administration), permitindo-lhes ser utilizado em aplicações na alimentação humana e animal.

Schuster et al. (2002) em estudo de revisão no qual discutem a segurança de *A. niger* em relação a patogenicidade, hipersensibilidade, e produção de toxinas concluiu que este é um organismo de produção seguro para uso industrial.

1.2.4 Fermentação em Estado Sólido

Enzimas microbianas podem ser produzidas por dois processos: fermentação em estado sólido (FES) e fermentação submersa (FSm).

O termo fermentação sólida, fermentação semi-sólida ou fermentação em estado sólido aplica-se ao processo de crescimento de microrganismos sobre substratos sólidos sem a presença de água livre circulante ou na sua quase ausência (PANDEY, 2008; PINTO, 2003; RAIMBAULT, 1998). A água presente nesses sistemas encontra-se complexada na fase sólida ou formando uma fina camada na superfície das partículas (RAIMBAULT, 1998). De acordo com Campbell-Platt (1994) FES foi, tradicionalmente, utilizada para produção de alimentos fermentados como derivados lácteos, molho a base de soja e sorgo fermentado.

A FSm é o processo no qual o meio fermentativo é líquido, sendo as fontes de nutrientes solúveis. Segundo Raimbault (1998) nas culturas submersas existe um controle maior de alguns parâmetros importantes do processo (como o pH e crescimento celular), o que é possível devido à homogeneidade da suspensão de células microbianas e da solução de nutrientes e produtos na fase líquida.

A FES é produzida em biorreatores em escala de laboratório e escala piloto. Em escala de laboratório existem diversas possibilidades como biorreatores de bandeja e de coluna (Figura 4), mas também se utilizam frascos, placas de Petri e jarras, e Erlenmeyer (Figura 5) (DURAND, 2003). A FSm é conduzida em fermentadores fechados, equipados com agitadores, dispositivos de aeração para introdução de ar estéril, e camisas e serpentinas para o controle de temperatura (LIMA et al., 2002). Na escala laboratorial podem ser utilizados erlenmeyers e agitadores na FSm (Figura 5b) (ELLAIHAH et al., 2004; KANWAR et al., 2002; MAHADIK, 2004; MAIA, 2001).

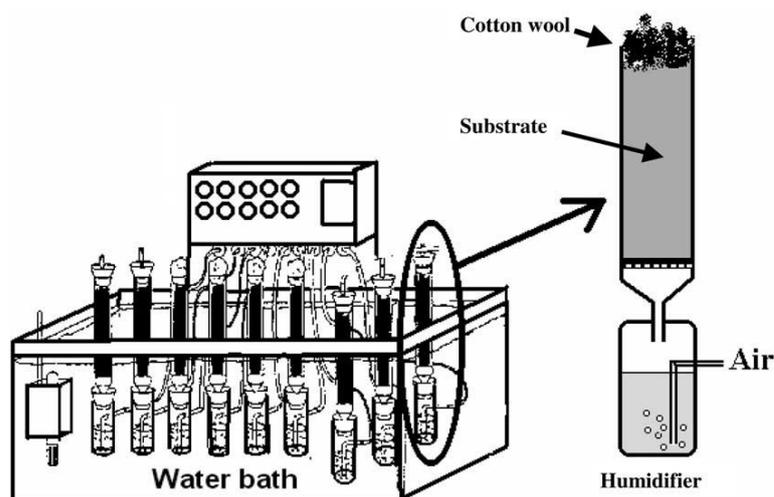


Figura 4. Biorreator de coluna de escala laboratorial: várias colunas imersas em um banho-maria para controle de temperatura (DURAND, 2003).



Figura 5. Exemplificação de FES (a) e FSm (b) em escala de laboratório (FERNANDES, 2007).

A FES é considerada superior em vários aspectos quando comparada com a FSm devido a diversas vantagens que apresenta (PANDEY, 2008):

- Utilização de resíduos agroindustriais como meio, os quais são de custos reduzidos e abundantes em países como o Brasil;
- Emprego de pouca quantidade de água e, conseqüentemente, liberação de menor quantidade de efluentes, reduzindo preocupações de poluição;
- Redução das contaminações devido à baixa umidade do meio fermentativo;
- Uso de equipamentos de pequeno volume (o que diminui custos) fornecendo produtos mais concentrados;
- Processo de aeração facilitado pelo aumento da taxa de difusão de oxigênio em substrato sólido umedecido.

Segundo Pandey (2008) os processos de FES utilizam matérias-primas naturais como fontes de carbono e energia, e a utilização de resíduos agroindustriais provenientes do processamento de frutos e grãos é uma alternativa econômica para produção de compostos de valor agregado como enzimas. Dentre os resíduos mais estudados, podem ser citados: farelo de trigo, farelo de arroz, bagaço de cana, bagaço de mandioca, borra de óleo (por exemplo, borra de óleo de coco, borra de semente de palma, borra de soja, etc.) polpas de frutas (por exemplo, maçã), sabugo de milho, pó de serra, sementes (por exemplo, tamarindo, jaca), casca de café e borra de café, resíduos de chá, etc. Essa simplicidade de meio de cultura e o baixo custo quando comparada a FSm, que utiliza meios de cultura de alto valor, torna a FES uma alternativa rentável para produção de enzimas.

A indústria de alimentos, em geral, gera resíduos os quais são jogados fora ou reaproveitados total ou parcialmente na elaboração de outros produtos como: alimentos, ração, adubo. Com esse reaproveitamento, a indústria diminui gastos, além de diminuir problemas ambientais. Na obtenção do extrato aquoso de soja, muito usado na elaboração de bebidas a base de soja, produz-se um resíduo chamado de okara. Silva et al. (2009) verificaram que a okara, usada como meio de fermentação, apresentou maior eficiência durante a FES para a obtenção de fitase de *Aspergillus niger* 11T53A9. A FES vem corroborar com a sustentabilidade ambiental na utilização de resíduos agrícolas e industriais na obtenção de produtos com valor agregado.

O presente estudo utilizou a okara, que se mostrou uma boa matéria-prima para produção de enzimas do tipo fitase, e que pode ter aplicações na indústria de alimentos ou de rações para animais monogástricos. Além de obter um produto com alto valor agregado que é a enzima, consegue-se reaproveitar o resíduo da indústria de bebidas a base de soja e diminuir os custos do processo de fermentação para obtenção da fitase. Outros trabalhos vêm realizando estudos nessa linha de raciocínio, como Spier et al. (2008) produziram fitase usando polpa cítrica e outros resíduos agroindustriais por FES utilizando isolados fúngicos.

Couri et al. (2000) produziram um extrato contendo poligalacturonase, celulase, xilanase e protease utilizando *Aspergillus niger* 3T5B8 por FES em diferentes resíduos agroindustriais (farelo de trigo e casca de manga). Damaso et al. (2002) produziram xilanasas livres de celulase utilizando *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145 por FSm usando sabugo de milho como substrato.

1.2.5 Aplicação de Fitases

Pesquisas com aplicação de fitases exógenas concentram-se em rações para suínos e aves, enquanto para alimentação humana há poucas pesquisas.

Silva (2003) realizou hidrólise do ácido fítico presente na farinha de lupino com uso de fitase de *Aspergillus niger* e verificou que 40min de incubação foi suficiente para hidrolisar todo ácido fítico na farinha de lupino, utilizando uma concentração enzimática de 500U/kg.

Rosell et al.(2009) testaram a adição de fitase comercial de *Aspergillus niger* na massa da farinha de trigo integral para panificação e verificaram que o teor de ácido fítico foi reduzido em 61% nos pães feitos com farinha tratada com fitase e 23% nos pães feitos com farinha sem fitase. Haros et al. (2001) também estudaram o efeito da adição de fitase comercial de *Aspergillus niger* na massa da farinha de trigo integral para panificação e observaram uma redução na concentração de ácido fítico de 59% e de 22% nos pães feitos com massa tratada com fitase e sem fitase, respectivamente.

Matuschek et al. (2005) realizou hidrólise do ácido fítico presente na farinha de sorgo com uso de fitase comercial de trigo, conseguindo uma redução total do ácido fítico em 24 horas de incubação utilizando uma concentração enzimática de 2000U/kg de farinha.

Para suínos em crescimento, Ludke et al. (2000) mostraram que houve maior eficiência da fitase quando adicionada em dietas contendo nível de proteína marginal (16%), em comparação às dietas com 18% de proteína bruta (PB), ao se avaliar o aproveitamento de energia pelos animais. Também Walz e Pallauf (2002), em suínos nas fases de crescimento e terminação, verificaram que a redução da PB e fósforo disponível, combinada com a suplementação de aminoácidos e fitase, resultaram em redução na excreção de nitrogênio e aumentou a digestibilidade do fósforo, cálcio e zinco, oferecendo um substancial benefício em manter uma produção de suínos ambientalmente sustentável. Kim et al. (2008) verificaram que a adição de fitase na suplementação na dieta de suínos trouxe efeitos benéficos na digestibilidade de componentes da dieta, principalmente do fósforo.

Costa et al. (2007) verificaram que com a adição de enzima fitase na ração para frango de corte obteve-se aumento do ganho de peso e conversão alimentar para as fases pré-inicial e inicial, mostrando a importância da fitase em rações com frangos de corte quanto ao desempenho dos animais. Camden et al. (2001) constataram que a adição de fitase na ração para frangos de corte à base de milho e farelo de soja, com níveis reduzidos de fósforo disponível e Ca, melhorou a retenção de nutrientes, reduzindo todos os nutrientes acumulados no estercó.

Viveros et al. (2002) avaliaram a influência da suplementação de fitase na dieta de frangos de corte sobre a utilização de Ca, P, Mg e Zn, recebendo dietas com baixo teor de P. Os autores observaram que, comparada à dieta normal, as aves alimentadas com dietas com baixo fósforo disponível sem fitase tiveram diminuição na retenção de Ca, Mg e Zn, às 3 e 6 semanas de idade. A suplementação com fitase nas dietas com baixo fósforo disponível aumentou a retenção de Ca, P, Mg e Zn, em 3 e 6 semanas de idade.

Conte et al. (2003) verificaram o efeito do uso da fitase da marca comercial Natuphos 5000 no desempenho e na deposição óssea de minerais em frangos de corte alimentados com dietas contendo 15% de farelo de arroz, baixo fósforo disponível e sem suplementação de ferro, cobre, zinco e manganês. O peso vivo e consumo de ração aumentaram de maneira

significativa com a adição de fitase, enquanto que a conversão alimentar não foi afetada, tanto aos 21 como aos 42 dias. O melhor nível de fitase foi de 1.105 e 1.023 FTU/kg para melhor desempenho, aos 21 e 42 dias de idade, respectivamente. Os níveis de fitase promoveram aumento linear nos teores de cinzas e fósforo da tibia e não afetaram a deposição de Zn, Fe, Mn e Cu, nas duas idades estudadas. Concluíram que a utilização de fitase em dietas com 15% de farelo de arroz permite redução na suplementação inorgânica de fósforo, ferro, cobre, zinco e manganês, sem afetar o desempenho das aves.

Gonçalves et al. (2007) observaram um aumento da disponibilidade do fósforo com a utilização de fitase em alimentos como a soja extrudada, o farelo de girassol, o milho, o milho extrudado, o sorgo com baixo tanino, o farelo de arroz e o farelo de soja utilizados em ração para tilápia-do-nilo.

1.3 MATERIAL E MÉTODOS

As etapas desta tese tais como: produção da fitase em condições previamente selecionadas, estabilidade enzimática ao armazenamento sob refrigeração, congelamento e temperatura de aplicação, e cinética de hidrólise na farinha de sorgo, foram realizadas no Laboratório de Processos Fermentativos da Embrapa Agroindústria de Alimentos. A matéria-prima utilizada para a cinética de hidrólise do ácido fítico foi o sorgo da variedade experimental 9929034 (baixo teor de taninos) fornecida pela Embrapa Milho e Sorgo.

A composição centesimal e o teor de ácido fítico (% em base seca) do sorgo integral foi: proteínas 12,3; lipídeos 3,9; cinzas 1,8; carboidratos 82,0 e ácido fítico 1,03.

A fitase comercial (EC 3.1.3.8) utilizada foi cedida pela BASF (Natuphos® 10000 G) produzida por *Aspergillus niger*.

1.3.1 Cinética da Produção da Fitase Embrapa por Fermentação em Estado Sólido

O microrganismo utilizado neste estudo foi o mutante *Aspergillus niger* 11T53A9 da Coleção de Microrganismos de Interesse da Indústria de Alimento e Agroenergia (Embrapa Agroindústria de Alimentos) para produção de fitase denominada enzima Embrapa. Este mutante foi obtido por técnicas convencionais de mutação e seleção conforme Couri e Farias (1995) e previamente selecionada por Silva et al. (2007) devido seu maior potencial de produção da enzima fitase, dentre 20 linhagens estudadas. Os parâmetros do processo para obtenção da fitase foram previamente otimizados por Silva et al. (2009).

1.3.1.1 Preparo do inóculo

Os conídios foram transferidos do solo para meio de gelose inclinado, previamente esterilizado a 121°C por 15 minutos, para indução do crescimento e produção da fitase. Os tubos foram incubados a 32°C por sete dias. Para melhorar a adaptação do microrganismo ao meio, foi realizado um segundo repique em gelose. O meio era composto de (g/L de meio): ácido fítico (5,0), NaNO₃ (3,0), MgSO₄.7H₂O (0,5), KCl (0,5), Fe₂SO₄ (0,01), KCl (0,5), CaCl₂ (0,5), ZnSO₄ (0,01), ágar-ágar (30,0) e o pH ajustado para 4,5, conforme Couri e Farias, 1995, exceto pela fonte de carbono e de fosfato a qual foi substituída por ácido fítico. Em seguida, os conídios foram transferidos para o meio de sabugo de milho enriquecido, previamente esterilizados a 121°C por 60 minutos, e incubado a 32°C por cinco dias para aumentar a concentração de esporos (COURI, 1993).

1.3.1.2 Cinética da produção da fitase Embrapa

Os conídios no meio de sabugo de milho foram ressuspensos em uma solução de tween 80 0,1% (v/v) e utilizados como inóculo na concentração de 10⁷ esporos/g de meio de fermentação. O meio, composto de okara (resíduo da soja), foi previamente umidificado com 60mL de solução de uréia (0,41% em solução de HCl 0,1N), para cada 100g de okara, e, esterilizado a 121°C por 15 minutos. O meio inoculado foi transferido para colunas de vidro acopladas com aeradores e imersas em banho-maria com circulação, modelo MA-470, Marconi (São Paulo, Brasil) a temperatura de 30°C, aeração de 1vvm e submetidos à FES (Figura 6), conforme Silva et al. (2009). As colunas de fermentação foram retiradas nos tempos de 0, 24, 42, 48, 66, 72, 90, 96 e 114 horas em duplicata para verificar o pico de produção da fitase.

A fitase exógena do meio fermentado foi extraída com tampão acetato 0,1M, pH 5,0 (100mL/40g de meio), seguida de incubação sob agitação por 1 hora a 30°C. Para remoção do resíduo sólido, a suspensão foi inicialmente filtrada com papel de filtro de filtragem rápida e,

posteriormente com membranas Millipore (0,45 μ m), para remoção dos esporos (SILVA et al., 2007). Após a filtração, uma parte da mistura dos extratos foi dialisada para a determinação da atividade fitásica.



Figura 6. a. Sistema para FES em colunas de vidro com aerção e temperatura controladas, b. Colunas após fermentação (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

1.3.1.3 Diálise

Para realizar a análise da atividade fitásica, o extrato enzimático foi dialisado conforme Silva et al, (2007) com objetivo de remover fosfatos. Os extratos foram dialisados em membrana de éster de celulose, Spectrum e MWCO de 500 Daltons, em tampão acetato 20 mM, pH 5,0 com trocas dessa solução 3 vezes ao longo de 1 dia, sob refrigeração. Após diálise, realizaram-se análises de atividade fitásica nos extratos.

1.3.2 Estudo da Estabilidade da Fitase Embrapa ao Armazenamento

A produção da fitase foi realizada conforme descrito nos itens 1.3.1.1 e 1.3.1.2, mas com tempo de fermentação fixo de 72 horas. O extrato enzimático não dialisado obtido foi armazenado em frascos individuais sob refrigeração a 3,6°C ($\pm 2,0$) e sob congelamento a -16,0°C ($\pm 2,5$). Análises da atividade fitásica nos extratos dialisados foram realizadas em triplicata no tempo zero e, mensalmente por um período de 6 meses. A estabilidade da fitase foi avaliada pela atividade fitásica relativa, calculada pela relação entre a atividade fitásica nos diferentes tempos de armazenamento e a atividade no tempo 0 multiplicado por 100.

1.3.3 Estudo da Estabilidade da Fitase Embrapa à Temperatura de Aplicação

A produção da fitase foi realizada conforme descrito no item 1.3.1, mas com tempo de fermentação fixo de 72 horas. O extrato enzimático dialisado foi adicionado em tubos de ensaio e foram submetidos em banho-maria a 50°C para simulação de um processo de hidrólise térmica, em triplicata. Os tubos foram retirados nos tempos de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 28, 32 horas e a atividade fitásica foi determinada em triplicata. A estabilidade da fitase foi avaliada conforme descrito no item 1.3.2.

1.3.4 Determinação do Crescimento Microbiano

Retirou-se uma amostra do meio de okara fermentado de cada ponto da curva de fermentação descrito no item 1.3.1.2 para avaliação do crescimento microbiano através de análise do teor de glicosamina (BLIX, 1948; SAKURAI et al., 1977).

1.3.5 Determinação da Atividade Fitásica

Para realizar a análise da atividade da fitase foi feita previamente uma diálise do extrato enzimático conforme descrito no item 1.3.1.3. A atividade fitásica foi determinada como descrito por Heinonen e Lathi (1981) com algumas modificações. Adicionou-se em eppendorf 200 μ L de tampão acetato (0,1M e pH 5,0), 100 μ L do extrato enzimático e 100 μ L da solução de ácido fítico (10 mM); a reação ocorreu em banho-maria a 50°C sob agitação por 25 minutos, sendo interrompida com 1,5mL de uma mistura de soluções (AMA) de ácido sulfúrico 5,0N, molibdato de amônio 10mM e acetona PA na proporção 1:1:2 v/v; em seguida adicionou-se 100 μ L de ácido cítrico 1,0M. Fez-se paralelamente um branco para cada extrato enzimático diferindo apenas na adição da solução de ácido fítico após a interrupção da reação com a mistura AMA. A mistura foi centrifugada a 8000rpm por 5 minutos e a absorvância do sobrenadante foi lida em 355nm. Para o cálculo da atividade enzimática, utilizou-se uma curva de calibração na faixa de 5 a 60nmol de fosfato. Cada unidade de atividade fitásica corresponde a 1 μ mol de fosfato liberado por minuto de reação nas condições de ensaio.

Para análise da atividade fitásica da enzima comercial realizou-se o procedimento da mesma forma que para a enzima Embrapa, mas usando tampão acetato pH 5,5 e temperatura de reação de 37°C, conforme orientação do fabricante.

1.3.6 Cinética de Hidrólise Enzimática na Farinha de Sorgo Integral

Os grãos de sorgo, Figura 7.a, foram secos em secador adiabático, tipo cabine, a 60°C até umidade de aproximadamente 7 a 8% para facilitar a moagem da casca, visto que com a umidade alta a casca apenas solta sem que ocorra a trituração. Após secagem, os grãos foram moídos no nível 2 do moinho de disco Laboratory Mill 3600, Perten (Suécia), Figura 7.b, elaborando uma farinha de sorgo integral.

Para estudo da cinética de hidrólise do ácido fítico da farinha de sorgo foram utilizados duas fitases: a produzida laboratorialmente conforme descrito no item 1.3.1 e a comercial (cedida pela BASF, Natuphos® 10000 G). Extratos enzimáticos contendo duas concentrações diferentes de cada enzima (400 e 800 U de fitase/kg de farinha) foram obtidos e testados. Para obtenção dos extratos, as fitases comercial e Embrapa foram dissolvidas em volume adequado de tampão acetato 0,1M, pH 5,5 e 0,1M, pH 5,0, respectivamente, de modo a atingir as concentrações definidas por kg da farinha.



Figura 7. a. Grãos de sorgo, b. Moinho de disco Laboratory Mill 3600, Perten (Suécia) (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

A cada 20 gramas de farinha de sorgo foram acrescentados 30 mL (contendo 400 e 800 U/kg de farinha) de extrato enzimático, previamente aquecido até temperatura do processo de hidrólise, 50°C para enzima Embrapa e 37°C para enzima comercial. O processo ocorreu em condições controladas de temperatura e agitação (100rpm) em duplicata e, em paralelo, um tratamento controle foi realizado nas mesmas condições, mas com o uso de solução tampão acetato 0,1M sem enzima, Figura 8. Após os tempos de 1, 2, 3, 4 e 6 horas de hidrólise, a reação foi paralisada em banho-maria a 100°C por 10 minutos e, as farinhas tratadas e controle foram secas a 60°C. Para avaliação da hidrólise enzimática na farinha de sorgo foi determinado o teor de ácido fítico nos diferentes tempos de reação.



Figura 8. Banho-maria com agitação, modelo 50, Precision Scientific (Chicago, EUA) (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

1.3.7 Determinação do Teor de Ácido Fítico

O teor de ácido fítico foi determinado como descrito na AOAC (2010, método 986.11). A amostra (tratada e não tratada com fitase) foi moída inicialmente em moinho de disco Laboratory Mill 3600 no nível 2, Perten (Suécia) e, posteriormente, em moinho martelo Laboratory Mill 3100 usando peneira de 0,8mm, Perten (Suécia) para facilitar a extração do ácido fítico. A extração foi feita com 40mL de solução de HCl 2,4% sob agitação por 3h, e centrifugada durante 15min seguida de filtração a vácuo. Cerca de 1mL do extrato obtido foi misturado com 1mL de Na₂EDTA-NaOH e avolumado para balão volumétrico de 25mL, logo

após transferido quantitativamente para uma coluna BIORAD empacotada com resina de troca aniônica AG1-X4, onde o fitato fica retido. Em seguida o fitato foi eluído com solução de NaCl 0,7M em balão de digestão micro-Kjeldahl de 100mL, sendo digerido a quente com H₂SO₄ e HNO₃. Após digestão ácida, a solução foi transferida quantitativamente para balão volumétrico de 50mL. Adicionou-se 2mL de solução de molibdato de amônio, 1mL de solução do reagente ácido sulfônico e completou-se o volume. Após 15min de reação com formação de cor azul, realizou-se leitura em espectrofotômetro a 640nm. O ácido fítico foi calculado baseando-se na quantidade de fósforo liberado.

1.3.8 Classificação Granulométrica

Realizou-se a classificação granulométrica da farinha de sorgo utilizada para a cinética de hidrólise enzimática. Esta análise foi realizada em duplicata utilizando um agitador de peneiras RO-TAP, modelo RX-29-10 (Mentor, EUA). Foram usadas 100 g de amostra por 10 minutos em um conjunto de sete peneiras arredondadas, vibratórias e com aberturas nas malhas de 1180, 850, 600, 425, 300, 150 e 106 µm (16, 20, 30, 40, 50, 100 e 150 mesh, respectivamente) e um fundo (Figura 9). Em seguida, os conteúdos retidos em cada peneira foram pesados e expressos em porcentagens.



Figura 9. Agitador de peneiras RO-TAP, modelo RX-29-10 (Mentor, EUA) (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Cinética da Produção da Fitase

Com base nos resultados apresentados na Figura 10, verificou-se que a produção da enzima foi associada ao crescimento do fungo *Aspergillus niger* 11T53A9 (teor de glicosamina). O aumento nos teores de glicosamina e fitase ocorreu até cerca de 72h de produção, mantendo-se praticamente constante após este período. Nessas condições, a atividade fitásica foi aproximadamente 0,6U/mL de extrato ou 1,55U/g de substrato seco.

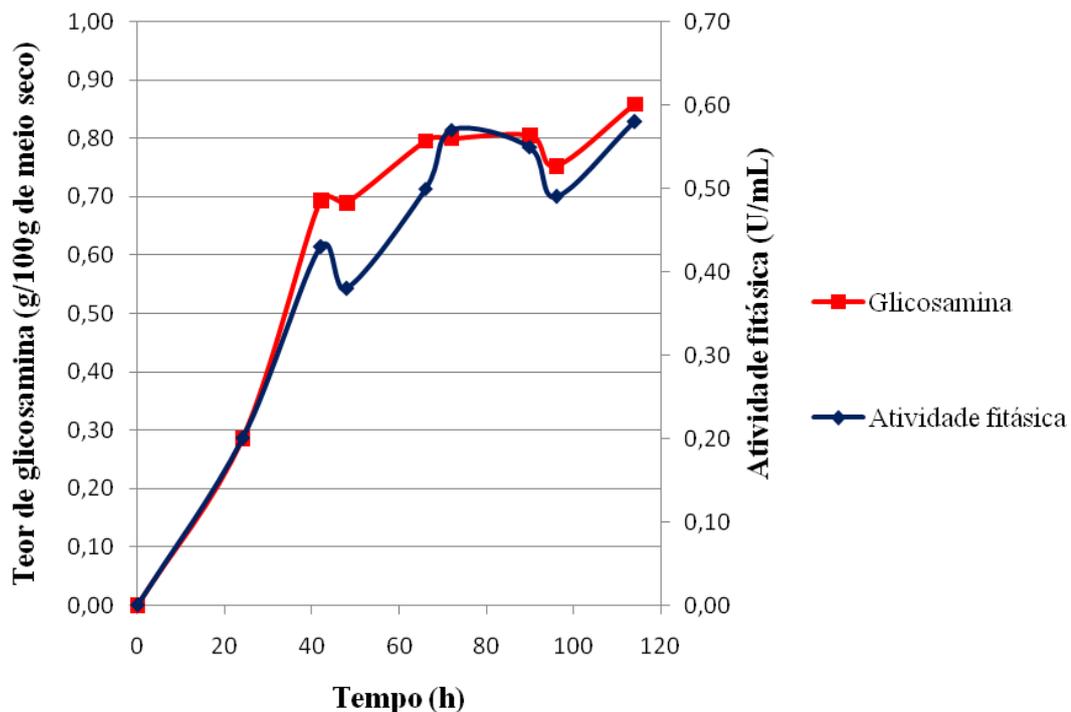


Figura 10. Teor de glicosamina e perfil cinético da produção de fitase no extrato enzimático em FES.

Trabalhos que buscam condições ótimas para produção de fitase com alta atividade e características de estabilidade a temperaturas altas, armazenamento e ampla faixa de pH são importantes. Segundo Spier et al. (2008), as fitases têm aplicações importantes na nutrição humana e animal, porque elas hidrolisam o fitato presente em legumes, grãos de cereais e sementes oleaginosas, culminando em uma maior disponibilidade de minerais, oligoelementos e aminoácidos, assim como fosfato.

Ahmad et al. (2000) produziram fitase de *Aspergillus niger* por FSm em meio à base de amido de milho, obtendo uma atividade fitásica de 1,075U/mL, após 10 dias de produção. Rodríguez-Fernández et al. (2010) produziram fitase de *Rhizopus oryzae* e verificaram atividade fitásica de 3,57U/mL após 96 horas de FES em meio à base de polpa cítrica. Após otimização do processo de extração enzimática do meio fermentado, a atividade aumentou para 4,01U/mL. Ambos com atividade superiores ao encontrado neste trabalho de tese, porém com tempos de fermentação superiores. Quanto menor o tempo de fermentação com alta atividade enzimática, maior a produtividade, o que gera menos gastos com energia.

IN et al. (2009) produziram fitase de *Saccharomyces cerevisiae* CY por FSm e verificaram atividade da fitase extracelular 0,484U/mL após 72 h de crescimento. Resultado

um pouco inferior ao encontrado nessa tese, com o mesmo tempo de fermentação e diferindo quanto ao tipo de fermentação.

Rani e Ghosh (2011) produziram fitase de *Rhizopus oryzae* e verificaram atividade fitásica de 8,35 (U/g de substrato seco) após 96 horas de FES. Roopesh et al. (2006) testaram diferentes substratos para produção de fitase por FES utilizando *Mucor racemosus* NRRL 1994 e verificaram atividade fitásica variando de 0,83 a 30 (U/g de substrato seco) após 96 horas de FES.

Spier et al. (2008) produziram fitase com cepas fúngicas por FES utilizando polpa cítrica como substrato, obtendo um máximo de atividade fitásica após cerca de 96 horas de fermentação. Observaram que a cepa melhor produtora de fitase foi a FS3 com atividade de 32U/g de substrato seco, depois a FS16 com 17,1U/g, FC5 com 16,81U/g, FS4 com 13,1U/g, FCP2 com 12,7U/g e FS22 com 10,6U/g.

Silva (2002) após otimização da produção de fitase de *Aspergillus niger* W2 verificou uma atividade catalítica cerca de 7,74 (U/g de substrato seco) em 48 horas de FES utilizando polpa cítrica. Esse tempo de 48 horas foi o menor dentre as pesquisas mencionadas nessa tese.

1.4.2 Estabilidade da Fitase Embrapa à Temperatura de Armazenamento

A estabilidade da fitase em condições de refrigeração a 3,6°C e congelamento a -16°C foi determinada pela atividade fitásica relativa, durante 6 meses de armazenamento, conforme apresentado na Figura 11. As alterações observadas ao longo do tempo de armazenamento foram verificadas nas diferentes amostras uma vez que para cada condição experimental foi separado um frasco com o extrato produzido e os erros inerentes aos procedimentos de diálise e análise estão inseridos na barra de erros. E, desta forma os resultados obtidos indicam que o extrato enzimático, com atividade fitásica, foi pouco afetado pela temperatura de armazenamento. A estabilidade enzimática ao armazenamento é um fator importante, pois viabiliza a logística desde a produção até seu uso, sem perdas expressivas de sua atividade. Silva (2002) verificou que a fitase produzida por *Aspergillus niger* W2 em polpa cítrica por FES, demonstrou estabilidade ao armazenamento por um período de 60 a 75 dias sob refrigeração a 4°C, sem auxílio de conservantes químicos. Este resultado corrobora com o presente estudo ressaltando que o tempo de estudo no trabalho de Silva (2002) foi menor, 2 meses e meio, e também o fato do autor estudar somente a estabilidade da enzima sob temperatura de refrigeração.

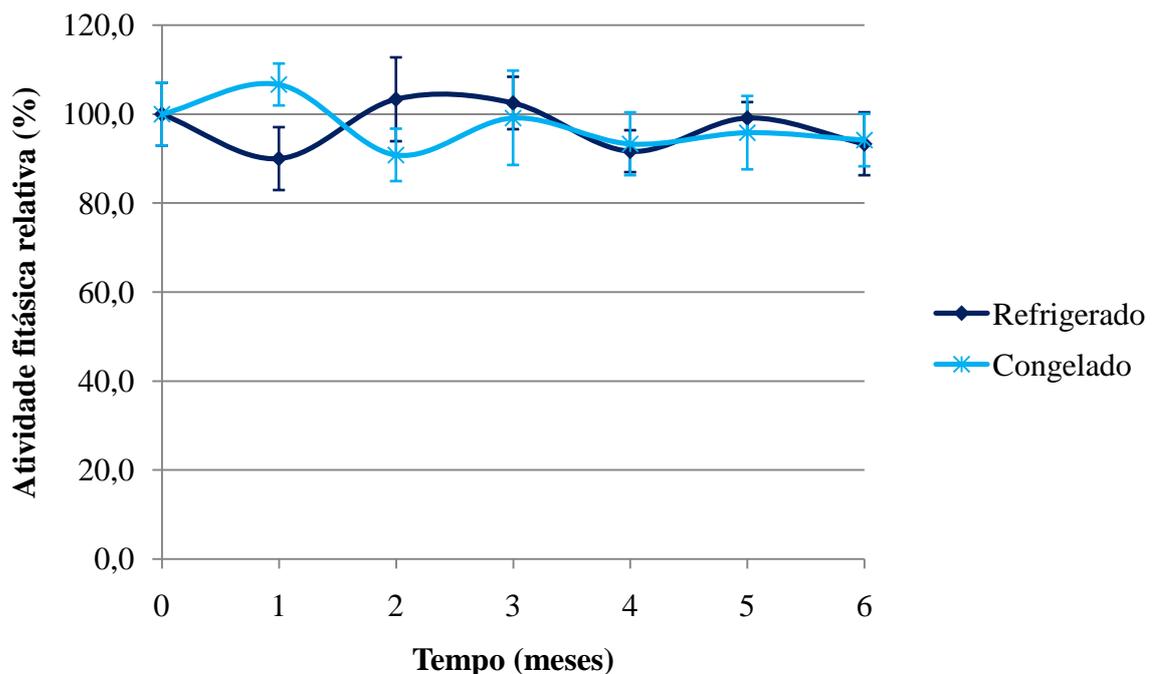


Figura 11. Estabilidade da fitase no extrato enzimático sob condições de refrigeração e congelamento.

Na literatura, outros trabalhos com diferentes enzimas são relatados. Damaso et al. (2002) no estudo da produção de xilanases de *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145, verificaram que a enzima produzida apresentou boa estabilidade à estocagem a -20°C na ausência de qualquer agente estabilizador durante 6 meses. Antoine et al. (2010) produziram xilanase de *Penicillium canescens* por FES usando borra de óleo de soja e verificaram que a enzima parcialmente purificada manteve a sua plena atividade após 6 meses armazenada em temperatura de refrigeração (4°C) e temperatura congelamento (-20°C). Resultados parecidos com o presente estudo.

Estudos de Paula et al. (2008) encontraram que a lipase microbiana de *Candida rugosa* imobilizada em suporte híbrido de polissiloxano-polivinilálcool por ligação covalente possuía boa estabilidade ao armazenamento sob refrigeração a 4°C por 60 dias com perdas de 23% de sua atividade.

1.4.3 Estabilidade da Fitase Embrapa ao Tempo de Incubação

O estudo da estabilidade da fitase a temperatura de aplicação industrial é outro fator importante, pois a enzima precisa ser estável o suficiente, na condição de processo, para que a reação de hidrólise do fitato presente na matéria-prima seja catalisada. A fitase produzida neste trabalho manteve boa estabilidade retendo 93 e 86% de sua atividade em 8 e 24 horas, respectivamente, a 50°C (Figura 12). A glicosilação pode ter influenciado de forma positiva na estabilidade da fitase em estudo. Segundo Greiner et al. (2009), a enzima purificada de *Aspergillus niger* 11T53A9 possui uma característica de glicosilação, e de acordo com Han e Lei (1999) a glicosilação foi vital para a termoestabilidade da fitase de uma levedura mutante de *Pichia pastoris*, a qual resultou em redução de 34% de sua estabilidade com a deglicosilação completa da enzima.

Os dados da curva (Figura 12) se ajustaram no modelo matemático expresso na equação polinomial de 2ª ordem (Equação 1) com coeficiente de determinação de 0,915, explicando 91% da variação total da atividade relativa da fitase no intervalo de tempo estudado.

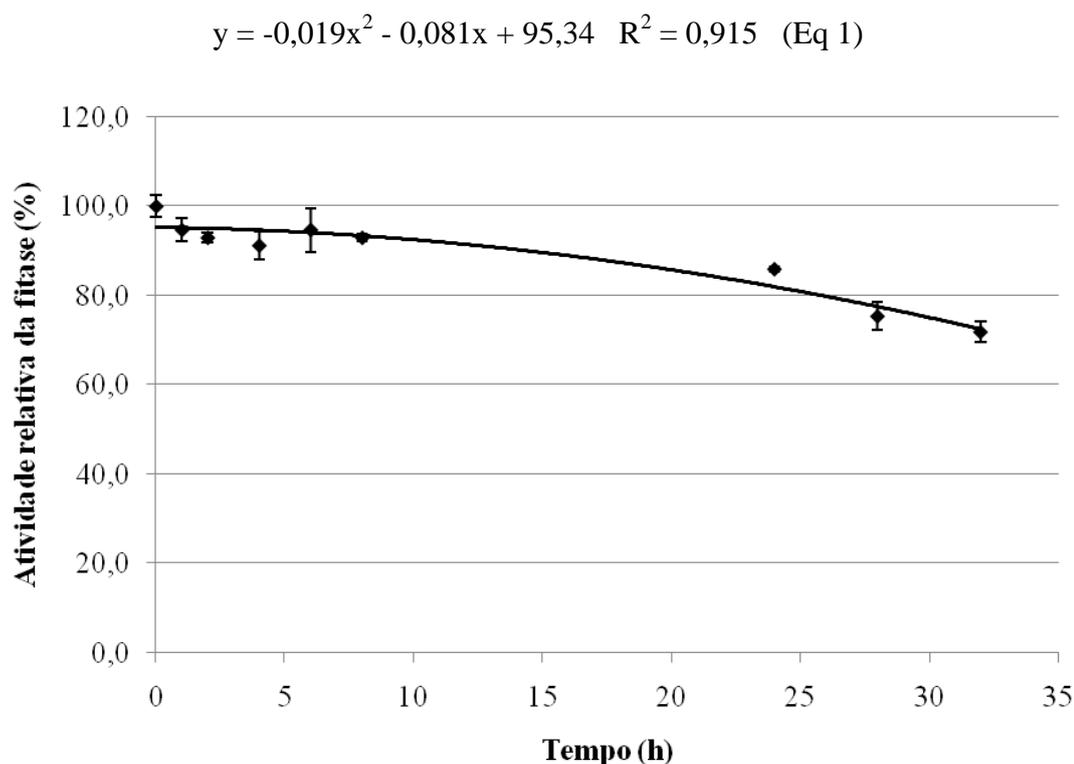


Figura 12. Estabilidade da fitase no extrato enzimático sob aquecimento a 50°C.

Silva (2002) verificou que a fitase de *Aspergillus niger* W2 foi estável a 50°C e a partir de 6 horas de incubação ocorreu um leve declínio de sua atividade catalítica, que se manteve constante até 8 horas, assim como a fitase deste trabalho de tese. A fitase purificada de *Rhizopus oryzae* por Rani e Ghosh (2011) manteve-se 100% estável quando incubada a 50°C por 30min. Enquanto, nas temperaturas de 60, 70 e 80°C foi observado uma perda de 10% e o tempo de meia vida a 70°C foi estimado em 8,25 horas, mostrando boa termoestabilidade da fitase. Singh e Satyanarayana (2009) encontraram que a fitase purificada de *Sporotrichum thermophile* manteve 100% de atividade a 60°C por 5 horas, com tempo de meia-vida de 16 horas a 60°C e de 90 min a 80°C, e observaram um aumento da termoestabilidade na presença de estabilizadores como trealose, glicerol, sorbitol e ácido fítico. Zhang et al. (2010) verificaram que a fitase purificada de *Aspergillus ficuum* NTG-23 mostrou boa termoestabilidade sem perdas de atividade por 1 hora a 60°C, ao passo que a 70°C perdeu 14% e quando aumentou para 80°C a atividade desapareceu em 10min.

Considerando outras enzimas, a xilanase de *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145 descrita por Damaso et al. (2002) apresentou apreciável termoestabilidade, retendo quase 50% da atividade durante 24 horas de incubação a 50°C e, aproximadamente, 50% da atividade a 60°C após 4 horas de incubação. Já para o estudo de estabilidade operacional da lipase imobilizada por ligação covalente de *Candida rugosa* realizado por Paula et al. (2008), o tempo de meia-vida encontrado foi de 81 horas a 37°C.

1.4.4 Cinética de Hidrólise Enzimática na Farinha de Sorgo com a Fitase Embrapa

Muitas pesquisas são realizadas adicionando-se fitase à matéria-prima, principalmente quando se trata de nutrição animal, para que tenha ação hidrolítica no trato gastrointestinal (*in vivo*) (COSTA et al., 2007). Porém, outra estratégia pode ser utilizada, trata-se da incubação *in vitro* da matéria-prima contendo fitase exógena para obtenção de farinhas com baixo teor de ácido fítico.

Os perfis cinéticos de hidrólise da farinha de sorgo utilizando extrato enzimático Embrapa, nas concentrações de fitase de 400 e 800 U/kg de farinha, além da condição controle (sem enzima) encontram-se na Figura 13. De acordo com Greiner et al. (2009) a fitase extracelular de *Aspergillus niger* 11T53A9 purificada foi específica para desfosforilação do mio-inositol hexaquisfosfato pela hidrólise sequencial de grupos fosfato via D-Ins(1,2,4,5,6)P₅, D-Ins(1,2,5,6)P₄, D-Ins(1,2,6)P₃, D-Ins(1,2)P₂ para finalmente Ins(2)P, classificando esta fitase como 3-fitase. Neste trabalho de tese utilizou-se o extato enzimático sem purificação, o qual continha fitase de *Aspergillus niger* 11T53A9, para o tratamento enzimático do sorgo.

Os dados das curvas (Figura 13) se ajustaram no modelo matemático expresso pela equação polinomial de 3ª ordem (Equação 2 e 3) com coeficientes de determinação de 0,995 e 0,996 explicando 99,5 e 99,6% da variação total do teor de ácido fítico para as curvas com concentrações de 400 (Equação 2) e 800 (U/kg de farinha) (Equação 3), respectivamente, no intervalo de tempo estudado.

$$y = 0,005x^3 - 0,025x^2 - 0,203x + 1,03 \quad R^2 = 0,995 \quad (\text{Eq 2})$$

$$y = -0,007x^3 + 0,114x^2 - 0,594x + 1,03 \quad R^2 = 0,996 \quad (\text{Eq 3})$$

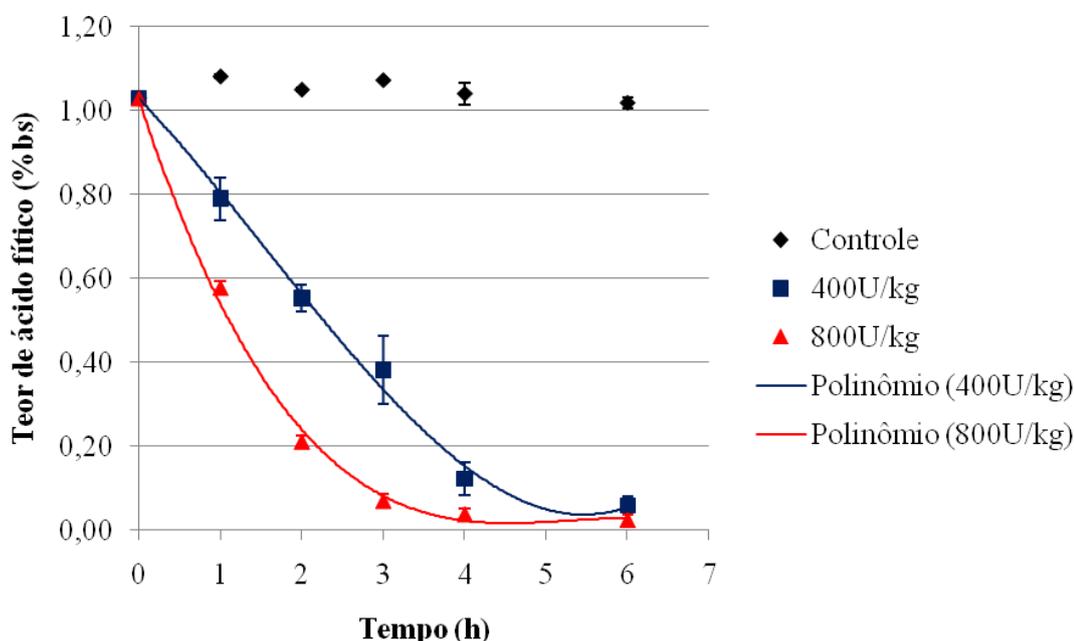


Figura 13. Perfil cinético da hidrólise enzimática (enzima Embrapa) na farinha de sorgo com concentração da fitase de 0 (controle), 400 e 800 U/kg de farinha.

Com a aplicação da enzima Embrapa verificou-se uma redução do teor de ácido fítico em cerca de 23 e 44% usando as concentrações enzimáticas de 400 e 800U/kg, respectivamente, em 1 hora de hidrólise. Em 2 horas de processo, nas mesmas concentrações enzimáticas, a redução foi de 46 e 79%, respectivamente. Observou-se que com a duplicação da concentração enzimática quase duplicou a redução do ácido fítico, tanto para 1 quanto para 2 horas de hidrólise. Portanto, a eficiência de hidrólise do ácido fítico foi diretamente proporcional ao aumento da concentração enzimática.

Após esse tempo, verificou-se que o tratamento enzimático nos tempos de 4 e 3 horas, utilizando as concentrações enzimáticas de 400 e 800U/kg, reduziu drasticamente o teor de

ácido fítico em 88 e 93%, respectivamente, mostrando que o procedimento em estudo é bastante promissor.

Se o processo para obtenção de uma farinha com menor teor de ácido fítico, por ação de fitase, for realizado na indústria (*in vitro*) aumentam as chances de êxito comparado com a adição da fitase na matéria-prima para sua ação *in vivo* (no trato gastrointestinal). Nessa segunda opção a matéria-prima adicionada de enzima é processada e armazenada até ser consumida. Com isso a atividade enzimática pode ser reduzida, parcial ou totalmente, devido a temperaturas altas no processamento, tempo e temperatura de armazenamento do produto acabado, bem como interferências no trato gastrointestinal, problemas que não ocorrem no caso *in vitro*.

Silva (2003) realizou hidrólise do ácido fítico presente na farinha de lupino com uso de fitase de *Aspergillus niger*, conseguindo uma redução do teor de fitato em menos tempo que o exposto nesse trabalho de tese. Verificou que 40min de incubação foi suficiente para hidrolisar todo ácido fítico na farinha de lupino, utilizando uma concentração enzimática de 500U/kg. Porém observou que esta redução não foi ocasionada somente pela hidrólise enzimática, pois 25% do ácido fítico foi removido por extração, situação que não ocorreu neste trabalho de tese, pois após a incubação da farinha de sorgo com o extrato enzimático, promoveu-se a secagem sem remoção do líquido que estava em excesso na farinha. Com isso, evitou-se a ocorrência de perdas de compostos solúveis como sais minerais presentes na farinha, os quais são importantes para uma adequada nutrição.

Silva (2003) utilizou no processo de hidrólise, uma proporção de extrato enzimático:farinha de lupino de 7,5:1, enquanto que, neste trabalho de tese a proporção de solução foi bem menor 1,5:1. Com essa menor quantidade de água conseguiu-se secar a suspensão diretamente, sem a necessidade de remoção de líquido excedente, portanto, não provocando a redução do teor de ácido fítico, conforme observado na curva controle (Figura 13). Provavelmente, essa maior quantidade de líquido favoreceu a mobilidade da enzima aumentando a eficiência de hidrólise quando comparada com o observado nesse trabalho.

Outra diferença é a concentração inicial de ácido fítico na farinha, pois quanto maior for a concentração maior será o tempo gasto para a reação de hidrólise. Silva (2003), em outro experimento, realizou hidrólise do ácido fítico presente em uma mistura de farinha de lupino e farelo de trigo com uso de fitase de *Aspergillus niger*. Verificou que houve uma redução do ácido fítico na mistura de 55 e 71% utilizando concentração enzimática de 500 e 1000U/kg, respectivamente, em 60min de incubação. Porém, observou que esta redução não foi ocasionada somente pela hidrólise enzimática, pois 49% do ácido fítico foram removidos por extração no tratamento controle. Justificou como uma provável contribuição na diferença de eficiência da redução do ácido fítico entre a farinha de lupino e a mistura de farinha, a concentração inicial de ácido fítico das amostras de 0,60 e 2,65%, respectivamente.

Outra diferença importante é o tamanho de partícula. A eficiência da hidrólise enzimática pode ser aumentada com a diminuição do tamanho da partícula de farinha devido a uma maior exposição do ácido fítico para ação da enzima fitase. Porém farinhas de granulometria muito fina prejudicam o processo de extrusão termoplástica no tipo de extrusora utilizada no presente trabalho de tese, Capítulo II. Por isso foi padronizada a moagem do sorgo.

No presente estudo, a farinha tinha uma granulometria mais grossa, com 77% da farinha com granulometria acima de 425 μ m (Figura 14), desfavorecendo a ação enzimática, comparado com Silva (2003) que trabalhou com uma farinha mais fina de granulometria inferior a 400 μ m.

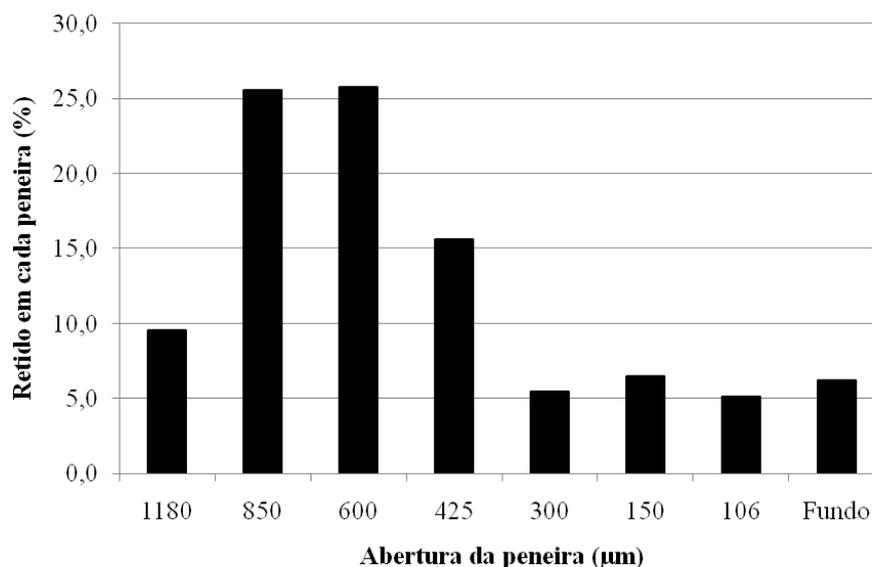


Figura 14. Classificação granulométrica da farinha de sorgo após moagem em moinho de disco para tratamento enzimático.

Rosell et al.(2009) testaram a adição de fitase comercial de *Aspergillus niger* na massa da farinha de trigo integral para panificação. Verificaram que o teor de ácido fítico foi reduzido em 61% nos pães feitos com farinha tratada com fitase e 23% nos pães feitos com farinha sem fitase. Haros et al. (2001), estudaram o efeito da adição de fitase comercial de *Aspergillus niger* na massa da farinha de trigo integral para panificação. Observaram uma redução de 59% na concentração de ácido fítico e de 22% nos pães feitos com massa tratada com fitase e sem fitase, respectivamente. Atribuíram que a redução do teor de ácido fítico na massa sem o uso de fitase foi devido à ação da fitase endógena da farinha de trigo, pois nenhuma atividade de fitase foi detectada na levedura prensada.

Matuschek et al. (2005) realizou hidrólise do ácido fítico presente na farinha de sorgo com uso de fitase comercial de trigo, conseguindo uma redução total do ácido fítico em 24 horas de incubação utilizando uma concentração enzimática de 2000U/kg de farinha.

Schons et al. (2011) aplicaram enzima fitase comercial em farinha de sorgo usando concentração enzimática de 100U/kg e verificaram uma aumento no teor de fósforo de 0,27% para 0,69% após 24 horas incubado. Esse aumento do teor de fósforo é ocasionado pela hidrólise do ácido fítico provocado pela ação da fitase.

Pesquisas vêm mostrando a eficiência da ação da fitase para redução do teor de ácido fítico em diferentes alimentos. Assim como o observado neste trabalho, cujo tratamento com fitase de *Aspergillus niger* 11T53A9 reduziu o teor de ácido fítico no sorgo em 93% em 3 horas de hidrólise utilizando concentração de 800U de fitase/kg de farinha.

1.4.5 Cinética de Hidrólise Enzimática na Farinha de Sorgo com a Fitase Comercial

Os perfis cinéticos de hidrólise do ácido fítico, usando extrato enzimático comercial, na farinha de sorgo aplicados com concentrações de fitase de 400 e 800 (U/kg de farinha), além do controle (sem enzima) encontram-se na Figura 15.

Comparando as duas enzimas utilizadas neste trabalho (Figuras 13 e 15), após 6 horas de processamento, os resultados obtidos com a enzima Embrapa, nas mesmas concentrações (400 e 800U/kg), quanto à redução do teor de ácido fítico foi próximo de 100% enquanto que o efeito da enzima comercial foi de 57,6 e 59,4%, respectivamente. Desta forma conclui-se que a enzima comercial, para a farinha de sorgo nas condições estudadas, foi menos eficiente que a fitase Embrapa.

Os dados das curvas (Figura 15) se ajustaram ao modelo matemático expresso na equação polinomial de 2ª ordem (Equação 4 e 5) com coeficientes de determinação de 0,986 e 0,907 explicando 98,6 e 90,7% da variação total do teor de ácido fítico para as curvas com concentrações de 400 (Equação 4) e 800 (U/kg de farinha) (Equação 5), respectivamente, no intervalo de tempo estudado.

$$y = 0,013x^2 - 0,188x + 1,03 \quad R^2 = 0,986 \quad (\text{Eq 4})$$

$$y = 0,018x^2 - 0,236x + 1,03 \quad R^2 = 0,907 \quad (\text{Eq 5})$$

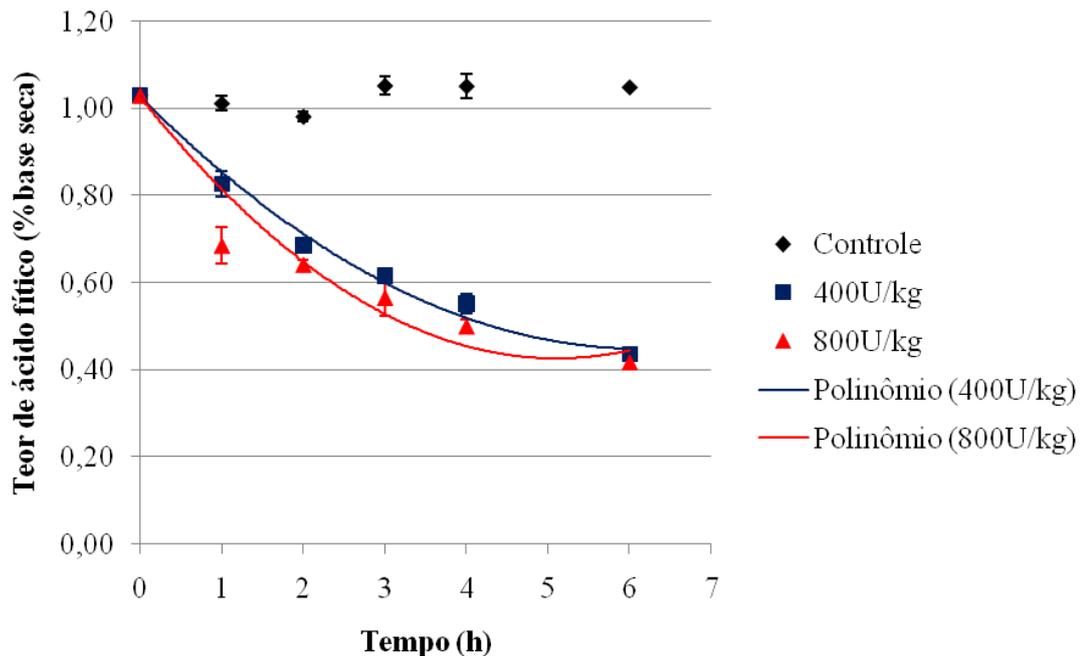


Figura 15. Perfil cinético da hidrólise enzimática (enzima comercial) na farinha de sorgo com concentração da fitase de 0 (controle), 400 e 800 U/kg de farinha.

1.5 CONCLUSÃO

A produção da fitase ocorreu associada ao crescimento do fungo. A maior produção de atividade fitásica de *A. niger* 11T53A9 foi aproximadamente 0,6U/mL de extrato, em 72 h de fermentação.

A fitase de *A. niger* 11T53A9 se mostrou estável a temperatura de aplicação industrial e ao armazenamento, tanto em temperatura de congelamento quanto de refrigeração, sem adição de conservadores, o que a torna viável para utilização comercial.

O tratamento enzimático da farinha de sorgo utilizando a fitase de *A. niger* 11T53A9 foi bastante promissor, pois se mostrou eficiente na hidrólise do ácido fítico, reduzindo-o drasticamente nos tempos de 4 e 3 horas, utilizando as concentrações de 400 e 800 U de fitase/kg de farinha, respectivamente. Adicionalmente, apresentou melhor desempenho que a enzima comercial nas condições estudadas, mostrando seu potencial para aplicação industrial.

CAPÍTULO II

USO DE FITASES E DO PROCESSO DE EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA NA PRODUÇÃO DE FARINHAS PRÉ-COZIDAS DE SORGO COM BAIXO TEOR DE ÁCIDO FÍTICO

RESUMO

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma gramínea originária da África e está entre os cinco cereais mais cultivados em todo o mundo. A utilização do sorgo integral como alimento humano apresenta algumas limitações devido a fatores antinutricionais, como o ácido fítico. O presente trabalho teve por objetivo a elaboração de farinha pré-cozida de sorgo integral com baixo teor de ácido fítico pelo processo combinado de tratamento enzimático e extrusão termoplástica. Realizou-se tratamento enzimático da farinha de sorgo integral utilizando fitase tanto comercial quanto Embrapa em uma concentração de 400U/kg e tempo de 2 horas. Essas farinhas foram às matérias-primas do processo de extrusão. As variáveis utilizadas no processo de extrusão foram: temperatura na zona 3 do extrusor (111,72-168,28°C) e a umidade de processamento da matéria-prima (13,17-18,83%). Estabeleceu-se um delineamento do tipo central composto rotacional de 2ª ordem para analisar o efeito combinado dessas variáveis nas variáveis respostas, as quais foram índice de expansão radial (IER), índice de solubilidade em água (ISA), índice de absorção de água (IAA), viscosidade de pasta inicial a 25°C (VI25), viscosidade de pasta máxima a 95°C (VMáx), viscosidade de pasta final (VF) e teor de ácido fítico. O modelo matemático utilizado foi de superfície de resposta com objetivo de representar graficamente os resultados obtidos das análises estatísticas. Nas farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial, a umidade influenciou negativamente sobre o IER e positivamente sobre o IAA, já a temperatura influenciou negativamente sobre o IAA. Para as farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa, a umidade e a temperatura influenciaram negativamente sobre o IER. Em relação as demais variáveis respostas, não houve influência significativa da umidade e temperatura ou não houve ajuste dos dados experimentais ao modelo proposto. As farinhas de sorgo tratadas enzimaticamente e processadas por extrusão produziram farinha de baixa viscosidade em água. O tratamento enzimático tanto com a fitase Embrapa quanto a comercial reduziu o teor de ácido fítico da farinha de sorgo integral. Porém, o processo de extrusão, nas condições que foram realizadas o experimento, não foi suficiente para diminuir o teor de ácido fítico no sorgo.

Palavras-chave: sorgo, farinha, extrusão, viscosidade.

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) is a grass-plot originally from Africa and it is among the five cereal most commonly grown worldwide. The utilization of whole sorghum as human food has some limitations due to antinutritional factors such as phytic acid. The present study aimed at developing pre-cooked flour of whole sorghum with low-phytic acid by the combined enzymatic treatment and thermoplastic extrusion. Enzymatic treatment was carried out in whole sorghum flour using both commercial and Embrapa phytase at a concentration of 400U/kg at time 2 hours. These flours were used like raw material of the extrusion process. The variables used in the extrusion process were: temperature of the extruder (111.72 to 168.28°C) and moisture of the raw material (13.17 to 18.83%). It was established a rotational composite central design of second order to analyze the combined effect of these variables on the responses variables, which were sectional expansion index (SEI), water solubility index (WSI), water absorption index (WAI), the initial paste viscosity at 25°C (VI25), maximum paste viscosity at 95°C (Vmax), final paste viscosity (FV) and phytic acid content. It was used the mathematical model of the response surface to represent graphically the results of statistical analyzes. In the sorghum extruded flour treated enzymatically with commercial phytase, it could be verified that the moisture content had affected negatively the values of SEI and positively the values of the WAI, even though the temperature had affected negatively the values of WAI. For the sorghum extruded flour treated enzymatically with Embrapa phytase, it could be verified that the moisture content and temperature had affected negatively the values of SEI. Regarding the other response variables, it could not be verified significant influence of temperature and moisture content or there was no adjustment of the experimental data to the model. The sorghum flour treated enzymatically and processed by extrusion produced flour of low viscosity in water. The enzymatic treatment using both commercial or Embrapa phytase reduced the phytic acid content of the whole sorghum flour. However, the extrusion process was not sufficient to reduce the phytic acid content of the sorghum flour in the studied conditions.

Keywords: sorghum flour, extrusion viscosity.

2.1 INTRODUÇÃO

O sorgo é uma gramínea originária da África e está entre os cinco cereais mais cultivados em todo o mundo. É utilizado como principal fonte de alimento em grande parte dos países da África e estudos estão sendo realizados para avaliar a utilização do sorgo em produtos que venham a ter uma boa aceitação pelos consumidores.

No Brasil este grão é praticamente utilizado na produção de rações. Em países da África e Ásia, o sorgo é bastante utilizado na produção de farinha, pães, biscoitos e bebidas alcoólicas. A utilização do sorgo integral como alimento humano apresenta algumas limitações devido a fatores antinutricionais, como o ácido fítico. Este problema pode ser amenizado com o uso da enzima fitase, que catalisa a hidrólise do ácido fítico à inositol e fosfatos, conforme estudado no Capítulo I.

A extrusão termoplástica, devido ao trabalho termomecânico, também é considerada um processo capaz de reduzir fatores antinutricionais, melhorar a digestibilidade e promover alterações nas propriedades físicas em alimentos extrudados, além de ser um método eficiente para conservação de alimentos.

O sorgo é uma boa fonte de energia, fibras, minerais e vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e niacina) (INTSORMIL, 2010). A aplicação de fitase e processo de extrusão no sorgo podem favorecer a obtenção de produtos com maior valor nutricional e benéficos à saúde, além de promover mudanças favoráveis nas características físicas das farinhas. Com isso, aumentaria o uso do sorgo para alimentação humana. O aumento do consumo de sorgo traz outros benefícios, pois tem custo de produção menor e é mais resistente à seca do que outras culturas.

Estudos sobre o emprego de extrusão em farinhas previamente tratadas com fitase exógena não foram reportados na literatura, geralmente estas enzimas são aplicadas, principalmente em ração animal, no produto final para que tenham ação no organismo.

2.1.1 Objetivos

- Obter farinha pré-cozida de sorgo com baixo teor de ácido fítico pelo processo combinado de tratamento enzimático e extrusão termoplástica;
- Avaliar o efeito da enzima fitase e da extrusão termoplástica nas características físicas da farinha de sorgo integral.

2.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2.1 Sorgo

O sorgo é provavelmente originado na África, pois é uma cultura muito conhecida pelas antigas civilizações da África Oriental, principalmente Etiópia e Sudão. A domesticação do sorgo, segundo registros arqueológicos, deve ter acontecido por volta de 3000 a.C., ao tempo em que a prática da domesticação e cultivo de outros cereais era introduzida no Egito Antigo à partir da Etiópia. A introdução no Ocidente teve início com o comércio de escravos, em torno de meados do século XIX. Embora este cereal tenha vindo para a América Latina através do comércio de escravos, seu cultivo não se tornou importante até o século atual, fato que também se aplica a Austrália (FAO, 1995).

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) pertence à família Poaceae, sendo originária da África (FAO, 1995). Os grãos do sorgo possuem uma grande variedade no quesito coloração, podendo ser branco, amarelo, vermelho ou marrom de forma arredondada. Apresenta estrutura básica dos cereais com pericarpo, endosperma e gérmen (Figura 16). O sorgo, como os outros cereais, é predominantemente amiláceo e seu conteúdo em proteína é comparável ao do milho e do trigo (FAO, 1995). O sorgo é dividido em 4 grupos agrônômicos: granífero, forrageiro para silagem ou sacarino, forrageiro para pastejo e vassoura, sendo o sorgo granífero o de maior expressão econômica (RIBAS, 2006).

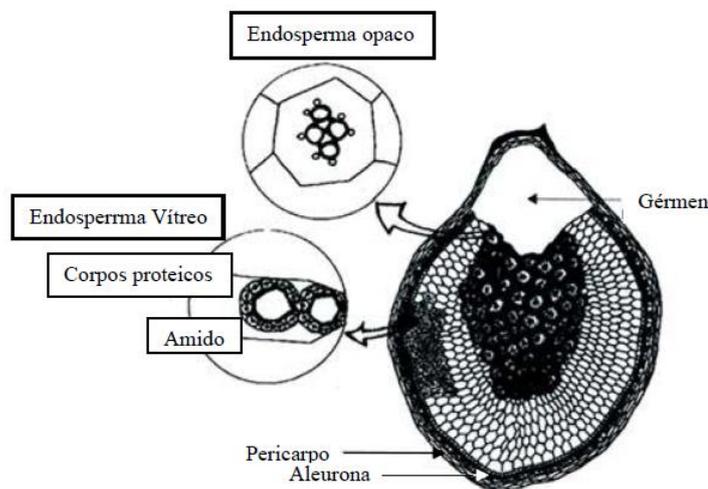


Figura 16. Estrutura do grão de sorgo. (CHANDRASHEKAR et al., 2000)

O sorgo está entre os cinco cereais mais cultivados em todo o mundo, ficando atrás do arroz, trigo, milho e cevada. O seu cultivo e consumo são importantes em países que estão em desenvolvimento e que tenham problemas de déficit hídrico durante o ano. A exceção a estas características, que são marcantes nos países produtores e consumidores de sorgo, são os Estados Unidos da América que é um dos maiores produtores de sorgo no mundo, o maior exportador e o quarto maior consumidor (EMBRAPA, 2008).



Figura 17. Lavoura de sorgo granífero (Créditos: Embrapa Milho e Sorgo).

O sorgo é utilizado como principal fonte de alimento em grande parte dos países da África, Sul da Ásia e América Central e importante componente da alimentação animal nos Estados Unidos, Austrália e América do Sul. Os grãos, também, podem ser utilizados na produção de farinha para panificação, amido industrial, álcool e a palhada pode ser utilizada como forragem ou na cobertura de solo (EMBRAPA, 2008).

Tradicionalmente, na África e Ásia o sorgo é consumido na forma de mingaus (papas), pão fermentado ou não fermentado, bebidas fermentadas, cuscuz, pipocas, snacks expandidos, cerveja opaca e até cozido como arroz ou no vapor. Tem-se realizado tentativas de introduzir alimentos a base de sorgo em países desenvolvidos, mas são poucos os produtos disponíveis para os consumidores embora pesquisas sejam realizadas para a produção de produtos a base de sorgo (PELEMBE et al., 2002; BUSTOS, 1988; GUERRA DE MODERNELL, 1984; FERREIRA et al., 2009; ANDERSON et al., 1969a; MAHASUKHONTHACHAT et al., 2010; FAPOJUWO et al., 1987; QUEIROZ et al., 2011; YOUSSEF, *et al.*, 1990). No Brasil, este grão é praticamente utilizado na produção de rações. A utilização do sorgo como alimento humano apresenta limitações devido ao alto nível de fatores antinutricionais, especialmente o ácido fítico, que podem prejudicar a biodisponibilidade de microelementos (MOHAMMED et al., 2010). Os produtos de sorgo podem ser produzidos com a adoção da fermentação ou da germinação, o que permite um incremento nas características nutricionais e funcionais do sorgo, sendo os produtos oriundos dos grãos inteiros ou a partir de farinhas (BELTON; TAYLOR, 2004). Na Tabela 2 estão apresentados alguns dos principais alimentos a base de sorgo.

Tabela 2. Principais alimentos e bebidas a base de sorgo.

| Tipo de alimento | Nome local | Região de consumo |
|--|--|---------------------------|
| Mingau espesso | ugali | Kenia, Uganda |
| | tô | Burkina Faso, el Níger |
| | tuwo | Nigéria |
| | acead | Sudão |
| | bogobe | Botsuana |
| | sadza | Zimbábue |
| | uji | Kenia, Tanzânia |
| Mingau fino | ogi ou koko | Nigéria, Gana |
| | edi | Uganda |
| | rouye | Níger, Senegal |
| | rabri | Índia |
| | bota ou motogo | Zimbábue Botswana |
| Mingau fermentado | nasha (microrganismos encontrados: <i>Streptococcus, Lactobacillus, Candida, Saccharomyces cerevisiae</i>) | Sudão |
| Pão não fermentado | roti e chapatti | Índia, Bangladesh, |
| | tortilla | Paquistão América Central |
| Pão fermentado | Injera (<i>Candida guilliermondii</i>) | Etiópia |
| | kisra | Sudão |
| Cerveja opaca (mingau fino fermentado) | chibuku | África Austral |
| Bebida alcoólica de sabor avinagrado | burukutu | Nigéria, Benin, e Gana |
| Bebida não alcóolica ou mingau fino | mahewu | África do Sul |
| | (<i>Lactococcus lactis, Streptococcus lactis</i>) | |
| | merissa (<i>Saccharomyces</i>) | Sudão |
| Bebida alcoólica | otika | Nigéria |
| | pito (<i>Geotrichum candidum, Lactobacillus, Candida</i>) | Nigéria e Gana |
| | cerveja Sul Africana (Bactérias lácticas e leveduras) | África do Sul |
| | talla | Etiópia |

Fonte: (ANGLANI, 1998; BLANDINO et al., 2003; FAO, 1995).

Segundo Correia (2010), os mingaus fermentados são preferidos aos não fermentados tanto na Ásia quanto na África. Os mingaus podem ser espessos ou mais líquidos, geralmente os espessos são consumidos com as mãos e são acompanhadas de vegetais, carnes, peixes e azeite e os mais finos são ingeridas no desjejum, por lactantes e lactentes sendo geralmente produzidas com sementes germinadas. Um exemplo de mingau utilizado na alimentação de lactentes é togwa que utiliza sorgo maltado e o processo de fermentação no seu processamento (BELTON; TAYLOR, 2004).

Pães feitos com sorgo apresentam um volume inferior e uma massa mais elástica, seca e escura do que os preparados com farinha de trigo, e estes também podem ou não ser fermentados (ANGLANI, 1998). Sorgo também pode ser utilizado para elaboração de bebidas fermentadas, as quais são bastante populares nos países africanos, sendo utilizadas como fonte

de energia. A Cerveja Sul-Africana distingue-se das outras cervejas por ser mais ácida e menos carbonatada, outra característica está no fato da fermentação não ser interrompida mantendo-se até o consumo (MWESIGYE; OKURUT, 1995).

De acordo com o último levantamento sobre a safra de grãos (CONAB, 2011) a produção nacional de sorgo na safra de 2010/11, foi de 2,02 milhões de toneladas. O último relatório publicado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) consolidou a produção mundial de sorgo - Safra 2010/11, em 66,08 milhões de Toneladas (USDA, 2012). A Figura 18 mostra os maiores produtores de sorgo no mundo.

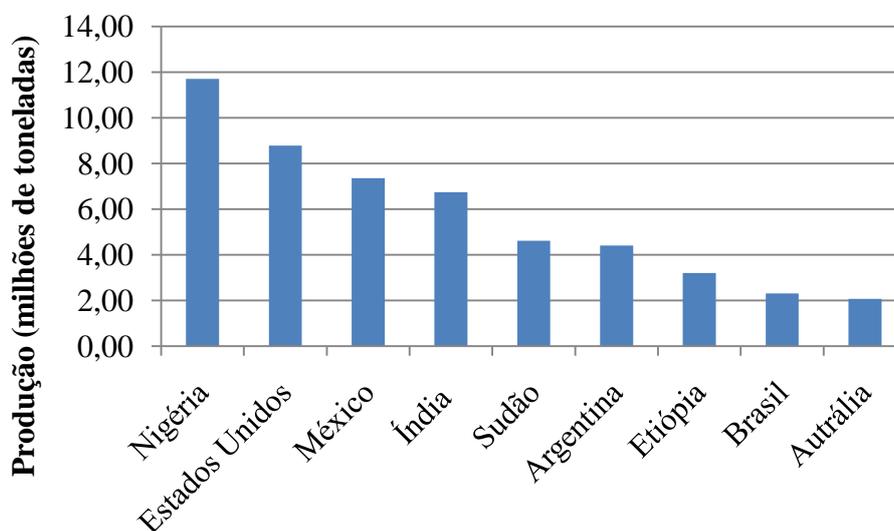


Figura 18. Maiores produtores mundiais de sorgo (Dados: USDA, 2012).

No Brasil, atualmente, a cultura de sorgo tem apresentado grande expansão (20% ao ano, a partir de 1995), principalmente, em plantios de sucessão a culturas de verão, com destaque para os Estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e região do Triângulo Mineiro, onde se concentram aproximadamente 85% do sorgo granífero plantado no país. Para o Brasil, é estrategicamente importante ter uma área ocupada com sorgo, para a garantia do abastecimento de grãos. A produção brasileira de grãos depende quase que exclusivamente da precipitação pluviométrica. Em anos com a ocorrência de condições desfavoráveis, normalmente há déficit na produção de grãos e o sorgo, sendo uma cultura de vocação para cultivo em condições adversas de clima e solo, poderia reduzir o impacto desse fator no abastecimento de grãos (EMBRAPA, 2008).

Os dados apontam que o consumo de sorgo no mundo corresponde, em média, 10% daquilo que é consumido de milho, porém no Brasil a razão sorgo milho é de apenas 3%, ou seja, apenas 3% do que é consumido de milho é consumido em equivalente de sorgo o que está bem abaixo da média mundial. O maior uso de grãos de sorgo no Brasil está na avicultura e suinocultura. Bovinos, equinos e pequenos animais são também consumidores, mas em menor proporção. Praticamente não há consumo de sorgo em alimentação humana. A utilização do sorgo exige mudança de hábitos que estão arraigados nos consumidores, e devido à desinformação, consideram de baixa qualidade àqueles produtos que contêm sorgo como componente, porém já está provado, cientificamente, que as qualidades nutricionais do sorgo são semelhantes à do milho (EMBRAPA, 2008).

2.2.2 Extrusão Termoplástica

Segundo Fellows (2006) o processo de extrusão envolve simultaneamente mistura, amassamento e cozimento o que provoca uma série de alterações complexas no alimento, como: hidratação dos amidos e proteínas, homogeneização, cisalhamento, modificação do amido e expansão da estrutura do alimento.

A extrusão termoplástica de alimentos é um processo de tratamento térmico a uma alta temperatura e durante um curto tempo (HTST – *high temperature, short time*), este processo reduz a contaminação microbiana e inativa enzimas, mas a principal forma de conservação dos alimentos extrudados é a baixa atividade de água (FELLOWS, 2006). Também melhora a digestibilidade de proteínas e amido, além de favorecer a eliminação de fatores antinutricionais.

O processo de extrusão possui uma série de vantagens entre as suas funções, tais como:

- Versatilidade: alterando-se os ingredientes, as condições de operação do extrusor e a matriz, pode-se obter uma grande variedade de produtos.
- Menor custo de produção e maior produtividade quando comparado a outros processos de manufatura de cereais.
- Qualidade do produto: o processo envolve altas temperaturas em curto espaço de tempo o que favorece o rápido cozimento dos ingredientes promovendo digestibilidade do amido, desativa fatores antinutricionais e desnatura proteínas vegetais sem alterar a qualidade, além de aumentar a vida de prateleira do produto pela redução da carga microbiana e pela baixa atividade de água do produto.
- Altas taxas de produção em larga escala: os extrusores funcionam continuamente e apresentam altas taxas de produção.
- Ausência de efluentes: o processo de extrusão não requer a utilização de grandes quantidades de água o que reduz custos com tratamento de água e não causa poluição ambiental por não produzir efluentes, e pode ser considerado como processo de tecnologia limpa. (FELLOWS, 2006; ASCHERI; CARVALHO, 2008).

Originalmente o processo de extrusão foi desenvolvido para a indústria de processamento de polímeros e vem sendo utilizada para cozinhar farinha de cereais. Industrialmente, é utilizado na produção de cereais matinais, texturização de proteína de soja, produção de “snacks”, sopas instantâneas e ração para animais domésticos e de produção (ASCHERI; CARVALHO, 2008).

Segundo Ascheri e Carvalho (2008), no processo de extrusão a matéria-prima é forçada a passar por uma matriz, em condições de mistura, aquecimento, pressão e fricção levando a modificação do amido.

O extrusor é constituído basicamente de um mecanismo de alimentação, um parafuso, um cilindro ou canhão, a matriz e um mecanismo de corte (Figura 19). Segundo Moura (2000), o parafuso é a parte central e principal do equipamento sendo dividido em três partes: zona de alimentação, transição (compressão) e alta pressão ou cocção de acordo com a Figura 19.

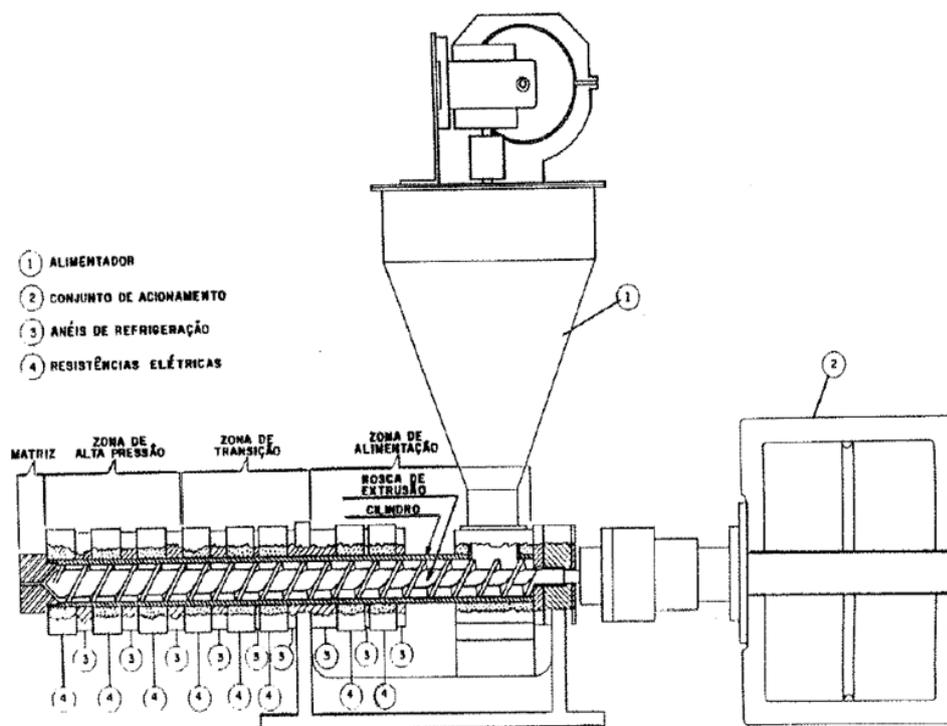


Figura 19. Esquema básico de uma extrusora monorosca (SEBIO, 1996).

O sistema de alimentação deve ser ininterrupto e constante, visto que é essencial para o funcionamento do extrusor e para a homogeneidade e qualidade dos extrudados. O cilindro encamisado permite a circulação de vapor, água, óleo ou ar contribuindo para o ajuste de temperatura entre as várias zonas do extrusor, podendo apresentar parafuso simples ou duplo. O cilindro pode apresentar ranhuras internas para evitar o deslizamento da massa e dessa forma atua aumentando a taxa de cisalhamento (GUERREIRO, 2007; ASCHERI; CARVALHO, 2008).

O parafuso é considerado a parte mais importante do extrusor, pois ajuda a regular o grau de cozimento e a qualidade final do produto. O parafuso do extrusor, também denominado rosca extrusora que arrasta, comprime, dilacera e amassa a matéria-prima, a qual é transformada em uma massa sólida e plástica que vai ser forçada a passar pela matriz. Na saída uma guilhotina ou lâmina giratória faz o corte do extrudado com o tamanho adequado (ASCHERI; CARVALHO, 2008; ORDONEZ, 2005).

A matriz apresenta configurações variadas o que é fundamental na qualidade do produto final, pois ao mudar a matriz pode-se alterar a taxa de cisalhamento, além de moldar o produto na forma desejada. A matriz funciona como um restritor de fluxo, mantendo a pressão na zona de cocção. O mecanismo de corte está acoplado à porção final do extrusor, o qual é constituído por lâminas que conforme a velocidade com que giram determina o comprimento do produto. Sendo assim uma maior velocidade originará produtos mais curtos e vice-versa (GUERREIRO, 2007; ASCHERI; CARVALHO, 2008).

2.2.2.1 Descrição do processo de extrusão

O princípio de funcionamento consiste em alimentar a extrusora com a matéria-prima previamente preparada (adicionada de água até o teor de umidade desejado e homogeneizada), que ao ser colocada no alimentador, o parafuso mistura e pressiona o material contra as paredes do cilindro, promovendo o cisalhamento e transformação em uma massa uniforme. Assim, a mistura absorve calor por dissipação de energia mecânica aplicada ao parafuso. O

calor pode ser oferecido ao processo através de uma camisa de vapor ao redor do cilindro ou por aquecimento elétrico e o controle da temperatura, em cada uma das zonas do extrusor, pode ser feito por meio de serpentinas de ar comprimido ou camisas de água fria. Com o aumento da pressão e da temperatura ocorre o cozimento do produto (EL-DASH, 1982).

O teor de umidade possui grande influência no processo de extrusão. Com o aumento do teor de água na massa o grau de degradação do amido diminui, ocorre um decréscimo na viscosidade que promove a redução da energia mecânica e assim diminui a pressão do produto na saída da matriz. Baixos valores de umidade acarretam maior grau de dextrinização e menor viscosidade de pasta a frio (VERNAZA et al., 2009; GUERREIRO, 2007; VAN DEN EINDE et al., 2004). Valores de umidade maiores reduzem a conversão do amido e a formação de bolhas é comprimida o que resulta em produtos mais densos e de baixa crocância (DING et al., 2005).

Segundo Ordonez (2005) a compressão exercida sobre a massa depende da configuração do parafuso e do corpo do extrusor. Dessa forma caso seja necessário promover uma pressão maior pode-se aumentar o diâmetro do parafuso e diminuir sua passagem de rosca ou utilizar o parafuso de passagem homogênea com cilindro tronco-cônico. A velocidade do parafuso também influencia no produto final, visto que a taxa de cisalhamento aumenta quando o parafuso está em uma velocidade mais alta o que resulta em um grau maior de cozimento da massa (ASCHERI; CARVALHO, 2008).

A massa encaminhada pelo cilindro é forçada a passar pela matriz, a qual também exerce uma pressão. Essa pressão será maior quanto menor o número e o diâmetro da matriz. A intensidade de pressão dentro do cilindro depende, em parte, do tamanho da matriz. Se o cilindro for completamente aberto na matriz final, não haverá pressão e o extrusor simplesmente agirá como um parafuso transportador. Inversamente, se a matriz final for completamente fechada, a pressão aumentará. Entre estes dois extremos, o tamanho da matriz afeta grandemente o desempenho do extrusor (FELLOWS, 2006; ASCHERI; CARVALHO, 2008; BORBA, 2005).

Após a extrusão, realiza-se uma secagem dos extrudados para umidades inferiores a 10%, podendo realizar a aplicação de sabores e temperos na etapa do resfriamento, dependendo do produto a ser elaborado (ASCHERI; CARVALHO, 2008; FELLOWS, 2006; BORBA, 2005).

2.2.2.2 Amido e o processo de extrusão termoplástica

As propriedades físico-químicas de um amido são influenciadas pela relação de amilose e amilopectina que este contém (VARAVINIT et al., 2003). O grânulo de amido possui uma estrutura semicristalina, caracterizada por apresentar birrefringência ao ser visualizado através de luz polarizada. Ao ser cozido, ocorre a fusão desta estrutura, destruição da área cristalina, que pode ser verificada através da perda de sua birrefringência, os grânulos incham, absorvem água e perdem amilose por lixiviação. A transformação sofrida pelo amido quando aquecido em presença de excesso de água é responsável pela funcionalidade desejada do amido em alimentos por encorpá-los (KARIN et al., 2007).

Nos últimos anos o processamento de alimentos com o objetivo de conservação e/ou melhoria do valor nutricional e/ou digestibilidade tem crescido, notadamente os produtos elaborados por meio do processo de extrusão (FERNANDES et al., 2002). A extrusão é um processo contínuo, onde o trabalho mecânico, combinado com calor, modifica o amido, desnatura as proteínas e, além de favorecer a formação de complexos entre lipídios, proteínas e amido, plastifica e reestrutura o material, comprimindo-o através de uma matriz, com o objetivo de criar um produto com características físicas e geométricas pré-determinadas (ASCHERI; CARVALHO, 2008; MERCIER et al., 1980; REYES-MORENO, 2002).

A extrusão termoplástica é um processo muito eficiente para modificar o amido. Materiais amiláceos têm elevado teor de amido e, quando extrudados, sofrem desordenação

molecular e perda de cristalinidade em função das variáveis combinadas do processo de extrusão (CARVALHO, 2000; ASCHERI; CARVALHO, 2008).

De acordo com Carvalho et al. (2002) o amido nativo absorve água até 30% do seu peso à temperatura ambiente, sendo sua viscosidade em meio aquoso praticamente nula. Entretanto, o amido extrudado absorve água rapidamente, formando uma pasta à temperatura ambiente, a qual é formada por macromoléculas solubilizadas, incluindo também partículas intumescidas. As alterações no índice de absorção de água (IAA) e índice de solubilidade em água (ISA) podem ser interpretadas com base nas interações de amido-água que governam a estrutura da fase sólida no processamento de extrusão do amido.

O ISA está relacionado à quantidade de sólidos solúveis em uma amostra seca, permitindo verificar o grau de severidade do tratamento, em função da degradação e conseqüente solubilização do amido. Sendo bem aceito que o ISA aumenta com a severidade do tratamento (ASCHERI et al., 2006a; ASCHERI; CARVALHO, 2008; CARVALHO et al., 2002).

Soares Junior et al. (1999) realizaram estudo a respeito das propriedades de expansão e hidratação de amido de mandioca extrudado com emulsificante e observaram que altos valores de expansão ocorreram com os menores teores de umidade. A água tem efeito inverso sobre a expansão, agindo como um plastificante para materiais amiláceos, reduzindo sua viscosidade e a dissipação da energia mecânica no extrusor e, assim, o produto fica mais denso e o crescimento das bolhas é comprimido (DING et al., 2005).

O IAA está relacionado com a viscosidade de pasta a frio, porque somente os grânulos de amido danificados absorvem considerável teor de água à temperatura ambiente e se incham, resultando num incremento da viscosidade. Depois que os grânulos de amido alcançarem um máximo de absorção, o IAA decresce indicando destruição da integridade molecular do amido quando é submetido à ação da energia mecânica e/ou térmica de maior grandeza (ASCHERI; CARVALHO, 2008; CARVALHO, 2000; SRIBURI; HILL, 2000).

A viscosidade de pasta é uma das determinações que permite estabelecer o quanto o tratamento térmico e/ou mecânico foi drástico para a estrutura amilácea. O amido cru quase não absorve água à temperatura ambiente, sendo sua viscosidade em meio aquoso praticamente nula (CARVALHO et al., 2002). Sendo assim, uma suspensão quando colocada em viscoamílografo observa fases diferentes de transformação do amido: absorção de água com intumescimento limitado nos grânulos de amido, com um pequeno incremento na viscosidade. Em seguida, ocorre um intumescimento rápido com um considerável aumento nos grânulos de amido. Conseqüentemente a viscosidade aumenta e as partículas perdem a forma original. Com a agitação e o efeito da aplicação de calor, os grânulos são desintegrados e as moléculas de amilose e amilopectina são desagregadas e com isso, a viscosidade diminui. Quando há a diminuição da temperatura, a energia cinética da amilose também diminui reagrupando-se novamente formando ligações de hidrogênio. Como conseqüência dessa retrogradação, a viscosidade aumenta. Tratamentos térmicos severos destroem a estrutura do amido fazendo com que haja uma redução da viscosidade de pasta. Na maioria das matérias-primas utilizadas, o amido é o componente que apresenta maior relação com as propriedades reológicas dos produtos extrudados (ASCHERI; CARVALHO, 2008; LINEBACK, 1984).

2.2.2.3 Farinhas e o processo de extrusão termoplástica

Farinha de cereais extrudada é o produto resultante da moagem dos extrudados. Este processo é uma maneira de agregar valor aos cereais, considerando o grande volume de consumo deste produto pelas indústrias alimentícias.

Farinhas pré-cozidas de cereais podem ser obtidas, em escala industrial, com o emprego de atomizadores (*spray dryer*), através de secagem em rolos ou pela extrusão. A extrusão é um dos processos mais vantajosos para substituir processos convencionais porque

apresenta controle mais rigoroso do grau de cozimento, e pequenas modificações no equipamento e/ou na matéria-prima podem levar a diferentes resultados finais na qualidade do produto (EL-DASH, 1982).

Apesar do sorgo não ser muito utilizado em alimentação humana no Brasil e seu consumo ser restrito a algumas regiões do mundo (EMBRAPA, 2008), pesquisas a cerca da utilização desse cereal para produção de produtos para humanos apontam o potencial desse grão como sendo favorável.

Pelembe et al. (2002) desenvolveram um mingau instantâneo de Sorgo e feijão-caupi rico em proteína, voltado para o público dos países da região sul da África, através do processo de extrusão e concluíram que o mingau foi comparável em composição e propriedades funcionais com um produto comercial (mingau de milho e soja instantâneo). No entanto, indicou o produto desenvolvido para o consumo infantil devido a seu alto valor nutritivo e viscosidade reduzida, pois para os adultos teria um impacto negativo pela presença do feijão-caupi, além de prejudicar seu manuseio que é consumido utilizando-se as mãos necessitando-se de um produto de maior consistência.

Bustos (1988) estudou o uso de farinha pré-cozida de sorgo, através de extrusão termoplástica, na produção de “tortillas” e verificou que o processo de extrusão mostrou-se adequado para elaboração de farinhas pré-cozidas semelhantes à farinha de milho nixtamalizada. Após avaliação sensorial concluiu que a adição de 10% de farinha de milho nixtamalizado às farinhas de sorgo extrudadas obteve-se “tortilhas” com características similares a de farinha de milho nixtamalizado.

Youssef et al. (1990) utilizou variedades de sorgo marrom e branco para fazer 16 produtos por extrusão. A proporção de sorgo nas formulações variou de 45 a 97 % e os estudos mostraram que o sorgo pode ser utilizado sozinho ou com outros cereais na elaboração de produtos extrudados com boa aceitabilidade.

Guerra (1984) em seu estudo para obtenção de farinhas pré-cozidas de sorgo decortificado usando um processo de moagem tradicional para cereais, mostrou que o processo de extrusão aumentou a digestibilidade. As farinhas obtidas apresentaram propriedades funcionais que as permitiriam ser utilizadas na preparação de alimentos instantâneos.

Anderson et al.(1969a) processaram grits de sorgo pelas técnicas de extrusão e cocção em rolos e observou que o grits de sorgo ao ser processado, pelas duas tecnologias resultou em um produto com propriedade de absorção de água e viscosidade semelhante as farinhas de milho processada para utilização em um produto alimentício utilizado no “Food for Peace Program”. O controle das condições utilizadas tanto na extrusão quanto no cozimento por rolos possibilitou preparação de produtos com vastas propriedades

Fapujuwo et al. (1987) utilizaram sorgo com baixo teor de tanino e verificaram que a extrusão melhorou a digestibilidade de uma variedade de 45,9-74,6% e da outra 43,9-68,2%. A temperatura de cozimento foi à variável que mais influenciou no aumento da digestibilidade.

Não foram encontrados na literatura relatos de extrusão de farinha de sorgo previamente tratada com fitase.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos do tratamento enzimático da matéria-prima e do processo de extrusão termoplástica foram realizados nas Plantas Piloto I e IV da Embrapa Agroindústria de Alimentos. A produção da fitase Embrapa foi realizada no Laboratório de Processos Fermentativos. A fitase comercial (EC 3.1.3.8) utilizada foi cedida pela BASF (Natuphos® 10000 G) produzida por *Aspergillus niger*. A matéria-prima utilizada para a cinética de hidrólise do ácido fítico foi o sorgo da variedade experimental 9929034 (baixo teor de taninos) fornecida pela Embrapa Milho e Sorgo. O diagrama de blocos a seguir mostra de forma resumida as etapas da metodologia da elaboração de farinha pré-cozida com baixo teor de fitato (Figura 20).

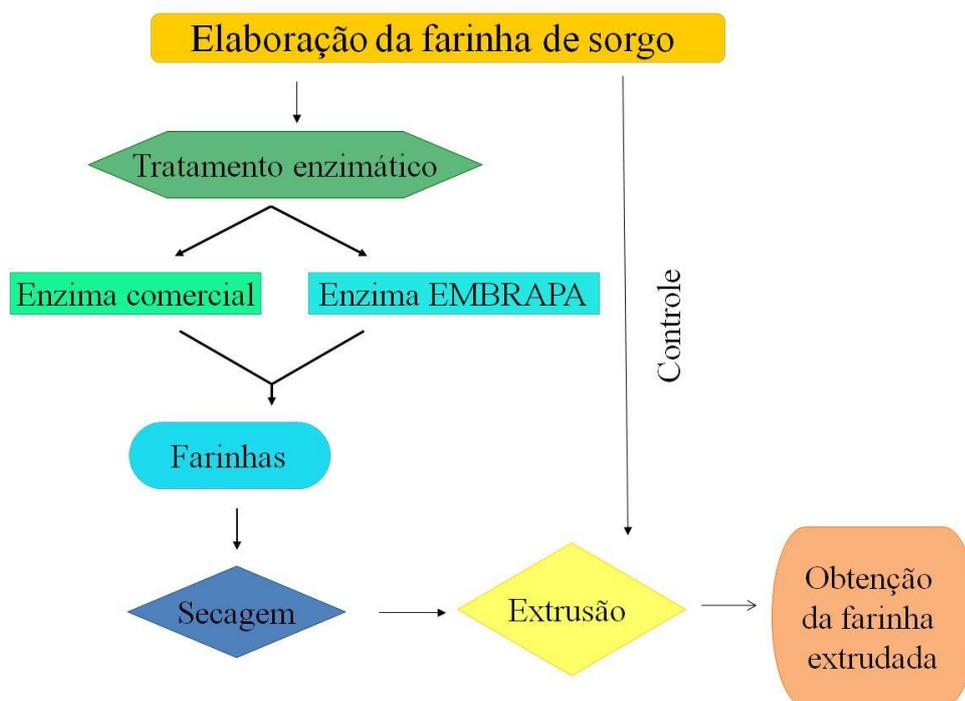


Figura 20. Diagrama de blocos das etapas da metodologia para elaboração de farinha com baixo teor de fitato.

2.3.1 Delineamento Experimental

O delineamento experimental para o estudo dos efeitos de algumas variáveis no processo de extrusão para produção de farinha pré-cozida de sorgo tratada enzimaticamente é apresentado nas Tabelas 3 e 4.

Foram consideradas as variáveis: temperatura na zona 3 do extrusor (°C) e umidade de processamento da farinha de sorgo (%). Para analisar o efeito combinado dessas variáveis nas características tecnológicas dos extrudados, se estabeleceu um delineamento do tipo central composto rotacional de 2ª ordem (BOX et al., 1978). O modelo matemático utilizado foi de superfície de resposta com objetivo de representar graficamente os resultados obtidos das análises estatísticas. Os parâmetros do processo estabelecidos como variáveis independentes foram estudados em três níveis codificados em (-1, 0, +1) calculados de acordo com a equação 6:

$$xi = (Xi - Z)/\Delta xi \quad (\text{Eq 6})$$

onde:

xi = valor codificado da variável Xi;

Xi = valor real da variável;

Z = valor real da variável no ponto central;

Δxi = valor do intervalo de variação do xi.

O delineamento apresentou dois níveis de variáveis axiais codificadas $-\alpha$ e $+\alpha$. O valor depende do número fatorial ($F = 2^k$) do delineamento e do número de variáveis independentes ($k = 2$) sendo o valor definido pela equação 7:

$$\alpha = (F)^{1/4} = (2^k)^{1/4} = 1,414 \quad (\text{Eq 7})$$

A escolha do número de ensaios em um experimento central composto baseado em um experimento fatorial completo é $n = 2^k + 2k + m$, onde:

2^k - número de pontos fatoriais;

$2k$ - número de pontos axiais;

m - número de replicatas do ponto central.

Assim, as unidades experimentais estudadas ficaram distribuídas da seguinte forma:

$2^k = 2^2 = 4$ pontos fatoriais;

$2k = 2 \times 2 = 4$ pontos axiais;

$m = 4$ replicações do ponto central.

Total de 12 unidades experimentais

Valores máximos e mínimos de cada variável independente foram estabelecidos de acordo com a experiência do orientador e dentro das possibilidades operacionais do extrusor. Para análise dos resultados experimentais, a metodologia proposta descreve o comportamento de um sistema no qual estão combinadas as variáveis independentes (X_k) e a variável dependente ou resposta (Y_i). A resposta é uma função dos níveis nos quais estes fatores foram combinados e definidos de acordo com Box e Draper (1967) na equação 8:

$$Y_i = F(X_1, X_2, \dots, X_k) \quad (\text{Eq 8})$$

Através de uma análise de regressão, pode ser ajustado para cada resposta (Y) um polinômio de segunda ordem como as variáveis explicativas (X_k). A expressão geral utilizada para prever o comportamento de cada resposta avaliada pode ser escrita conforme equação 9:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon \quad (\text{Eq 9})$$

onde:

Y_i = função de resposta;

X_1, X_2 = valores das variáveis independentes;

β_0 = coeficiente relativo à interpretação do plano com o eixo resposta;

β_1, β_2 = coeficientes lineares estimados pelo método dos mínimos quadrados;

β_{11}, β_{22} = coeficientes das variáveis quadráticas;

β_{12} = coeficientes de interação entre as variáveis independentes;
 ε = erro experimental.

Apresentam-se na Tabela 3 os níveis codificados (-1, 0, +1) e os axiais (- α , + α), com seus valores reais e o delineamento completo na Tabela 4.

Tabela 3. Níveis das variáveis independentes do experimento referente ao 1º e 2º Bloco.

| Variáveis | Níveis | | | | |
|----------------|------------------|-----|-----|-----|------------------|
| | - $\alpha=1,414$ | -1 | 0 | 1 | + $\alpha=1,414$ |
| X ₁ | 111,72 | 120 | 140 | 160 | 168,28 |
| X ₂ | 13,17 | 14 | 16 | 18 | 18,83 |

X₁= Temperatura na zona 3 do extrusor (°C)

X₂= Umidade de processamento da farinha de sorgo (%)

Tabela 4. Delineamento completo do desenho experimental para farinha de sorgo tratada enzimaticamente com enzima comercial (1º Bloco) e enzima Embrapa (2º Bloco).

| Experimento | Níveis codificados das variáveis | | Níveis decodificados das variáveis | |
|-------------|----------------------------------|----------------|------------------------------------|----------------|
| | x ₁ | x ₂ | X ₁ | X ₂ |
| 1 | 1 | -1 | 160 | 14 |
| 2 | 1 | 1 | 160 | 18 |
| 3 | -1 | -1 | 120 | 14 |
| 4 | -1 | 1 | 120 | 18 |
| 5 | - α | 0 | 111,72 | 16 |
| 6 | α | 0 | 168,28 | 16 |
| 7 | 0 | - α | 140 | 13,17 |
| 8 | 0 | α | 140 | 18,83 |
| 9 | 0 | 0 | 140 | 16 |
| 10 | 0 | 0 | 140 | 16 |
| 11 | 0 | 0 | 140 | 16 |
| 12 | 0 | 0 | 140 | 16 |

X₁ e x₁= Temperatura na zona 3 do extrusor (°C)

X₂ e x₂= Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada enzimaticamente (%)

*24 unidades experimentais, 12 usando extrato enzimático comercial e 12 usando extrato enzimático Embrapa.

Para amostra controle, farinha de sorgo sem tratamento enzimático, foram realizadas as extrusões do ponto central (quatro replicatas) representando o 3º Bloco, incompleto.

Resumo do delineamento experimental:

- 12 unidades experimentais usando extrato enzimático comercial (1º Bloco);
- 12 unidades experimentais usando extrato enzimático Embrapa (2º Bloco);
- 4 unidades experimentais sem extrato enzimático para amostra controle (3º Bloco);
- Total de 28 unidades experimentais.

Fez-se análise de variância (ANOVA) pelo teste F a 5% de probabilidade para testar o ajuste dos dados experimentais ao modelo utilizado. O modelo de regressão é significativo quando o valor do teste F calculado (F_{calc}) for maior ou igual ao do F tabelado (F_{tab}). O

modelo é preditivo à medida que o F_{calc} for maior que o F_{tab} (BOX; WITZ, 1973). O processamento dos dados e a análise estatística foram elaborados com o auxílio do programa “Statistica” versão 6.0 (Tulsa, EUA).

2.3.2 Produção da Enzima Fitase para Aplicação na Farinha de Sorgo Integral

Utilizou-se a linhagem *Aspergillus niger* 11T53A9 da coleção de Microrganismos da Embrapa Agroindústria de Alimentos para produção de fitase a qual foi denominada enzima Embrapa. A produção da fitase foi realizada conforme descrito no item 1.3.1.1, mas com tempo de fermentação fixo de 72 horas, e item 1.3.1.2 referentes ao Capítulo I. Os extratos foram armazenados sob congelamento para posterior aplicação na farinha de sorgo.

2.3.3 Tratamento Enzimático na Elaboração da Farinha de Sorgo Integral

Foram elaboradas farinhas de sorgo integral com três processos diferentes para posterior extrusão em três blocos:

- 1º Bloco - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial Natuphos® 10000 G (enzima cedida pela BASF, *The Chemical Company*);
- 2º Bloco - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa (enzima produzida laboratorialmente conforme descrito no item 2.3.2);
- 3º Bloco - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático (apenas os pontos centrais foram extrudados).

2.3.3.1 Obtenção da farinha de sorgo integral

Os grãos de sorgo foram secos e moídos conforme descrito no item 1.3.7 do Capítulo I, elaborando uma farinha de sorgo integral. Essa farinha foi utilizada para o processo de extrusão termoplástica (controle) e para os diferentes tratamentos enzimáticos. A eficiência da hidrólise enzimática pode ser aumentada com a diminuição do tamanho da partícula de farinha, porém farinhas de granulometria muito fina prejudicam o processo de extrusão termoplástica no tipo de extrusora utilizada no presente estudo. Por isso foi padronizada a moagem tanto para o estudo da cinética de hidrólise do sorgo no Capítulo I quanto para o tratamento enzimático da farinha de sorgo neste Capítulo II.

2.3.3.2 Tratamento enzimático da farinha de sorgo integral

Para o tratamento enzimático da farinha utilizou-se fitase tanto comercial quanto Embrapa em uma concentração fixa de 400U/kg e tempo de 2 horas. No estudo da cinética de hidrólise enzimática (Capítulo I) verificou-se pequena diferença de resultado nas duas concentrações de 400 e 800U/kg usando a enzima comercial, mas com o uso da enzima Embrapa essa diferença foi considerável. Devido à grande quantidade necessária da enzima Embrapa e a limitação de produção pelo tamanho do fermentador (escala de bancada) foi escolhida a concentração de 400U/kg de farinha. O tempo de hidrólise foi escolhido baseando-se na cinética de hidrólise (Capítulo I), que foi suficiente para promover a hidrólise parcial permitindo que ainda houvesse ácido fítico e assim poder verificar o efeito combinado com o processo de extrusão na redução deste ácido fítico remanescente.

A enzima comercial foi dissolvida em solução tampão acetato 0,1M e pH 5,5. E o extrato enzimático Embrapa foi ajustado nas concentrações do estudo usando solução tampão acetato 0,1M pH 5,0.

Para obter uma grande quantidade de farinha de sorgo tratada enzimaticamente que fosse suficiente para os 12 tratamentos da extrusão conforme delineamento experimental (item 2.3.1), o processo de hidrólise da farinha de sorgo foi realizado em um Biorreator ou fermentador de escala piloto, Fermentador Drive Assembly (Figura 21), modelo FS-414,

marca New Brunswick Scientific (Nova Jersey, EUA), equipado com três dornas (14 litros cada), munido de sistema de agitação e controle de temperatura.



Figura 21. Fermentador Drive Assembly, modelo FS-414, marca New Brunswick Scientific (Nova Jersey, EUA) (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

Para o processo de hidrólise da farinha de sorgo usando enzima comercial, inicialmente adicionou-se em cada uma das três dornas 4 kg de farinha de sorgo e 6 L de solução de fitase (400U/kg de farinha) previamente aquecida a 37°C, temperatura do processo. A proporção de líquido na massa seca de farinha foi estabelecida de forma que essa farinha úmida tivesse mobilidade para ação enzimática, em cerca de 60% de umidade, mas sem ficar com muita água o que encareceria e aumentaria o tempo de processo de secagem. Após 2 h de hidrólise retirou-se o conteúdo das dornas despejando-o em bandejas, as quais foram colocadas em secador adiabático com ventilação forçada, tipo cabine, cuja temperatura do ar de secagem oscilou entre 75 e 80°C, por aproximadamente 5h e 30min (Figura 22a). A umidade da farinha hidrolisada, após essa 1ª etapa de secagem, estava aproximadamente 25% sendo armazenada em câmara fria a 6°C. No dia seguinte, foi posta novamente no secador a 60°C até a umidade alcançar valores inferiores a 13%. Durante a etapa de secagem a massa foi revolvida algumas vezes sendo esfarelada e homogeneizada para facilitar a secagem e assim, evitar a formação de uma massa compacta a qual necessitaria de moagem o que diminuiria a granulometria prejudicando a extrusão. No final da secagem a farinha foi peneirada (Figura 22b) e forçada a passar pelos furos da peneira de 12 mesh (1700µm) para desagregar os grumos ainda existentes. A farinha foi então armazenada em câmara fria a 6°C até seu uso nos 12 tratamentos do processo de extrusão.



Figura 22. a. Secador adiabático com ventilação forçada, tipo cabine, b. Farinha peneirada usando peneira de 12 mesh (1700 μ m) (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

Quanto ao processo de hidrólise da farinha de sorgo usando enzima Embrapa procedeu-se da mesma forma que a anterior, porém com algumas diferenças: utilizou-se duas dornas, a concentração do extrato enzimático foi aproximadamente de 310U/kg de farinha e a temperatura do processo de hidrólise foi de 50°C. A concentração da enzima foi menor, pois no início do processo com a primeira dorna ao fechá-la esta se quebrou ocasionando a perda de extrato enzimático. Devido à necessidade de tempo para produzir mais extrato, uso do fermentador (utilizado para produção da enzima Embrapa, item 1.3.1.2 do Capítulo I) por outros pesquisadores, além da necessidade da farinha hidrolisada para dar continuidade ao projeto, optou-se por diluir o extrato que estava na concentração de 400U/kg para 310U/kg e obter quantidade de farinha hidrolisada suficiente para o processo de extrusão e análises.

No estudo da cinética de hidrólise no Capítulo I, a reação enzimática foi interrompida com uso de banho-maria a 100°C. Conforme descrito nos parágrafos anteriores, neste segundo capítulo, o processo de hidrólise não foi interrompido após 2h de reação, e a farinha tratada foi apenas seca. O fato da reação não ter sido interrompida favoreceu a continuidade da hidrólise enzimática na farinha, que foi benéfico. Por não ter sido submetida ao banho-maria a 100°C o amido não sofreu o processo de cozimento, o que prejudicaria o processamento da farinha por extrusão.

2.3.4 Processamento por Extrusão: elaboração da farinha de sorgo integral pré-cozida após tratamento enzimático

Utilizou-se o extrusor Brabender monorosca, modelo DSE-20DN, acoplado ao torque DSE-330, equipado com resistências elétricas em três zonas de aquecimento ao longo do cilindro ou canhão, sistema de alimentação e velocidade de rosca ou parafuso controlada em rpm (Duisburg, Alemanha) localizado na Planta Piloto IV (Planta de Extrusão Termoplástica) da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Figura 23).



Figura 23. Extrusora monorosca, modelo DSE-20DN, Brabender (Duisburg, Alemanha) (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

Para produção da farinha pré-cozida foram utilizados parâmetros estabelecidos de acordo com a experiência de trabalhos anteriores e dentro das possibilidades operacionais da extrusora utilizada. Parâmetros constantes:

- Velocidade de rotação do parafuso: 140 rpm;
- Taxa de compressão do parafuso: 3:1;
- Temperatura do cilindro: 60°C (1ª zona) e 80°C (2ª zona);
- Matriz de saída circular: 3 mm.

Parâmetros variáveis:

- Temperatura da 3ª zona do cilindro: 120, 140 e 160°C;
- Umidade da farinha: 14, 16 e 18%.

Antes do processamento por extrusão, realizou-se um ajuste da quantidade de água na farinha de sorgo obtida conforme descrito no item 2.3.3 para os diferentes níveis de umidade de acordo com o delineamento experimental, conforme Equação 10. A umidade inicial da farinha foi determinada usando balança determinadora de umidade, modelo MOC-120H, Shimadzu, com 2 g de amostra e secagem até peso constante.

$$Y = \frac{(U_f - U_i) * P_a}{100 - U_f} \quad (\text{Eq10})$$

onde:

Y= quantidade de água a ser adicionada (mL);

U_f = umidade final da amostra (%);

U_i = umidade inicial da amostra (%);

P_a = peso da amostra (g).

Após adição e homogeneização da água nos diferentes tratamentos as amostras de farinha foram acondicionadas em sacos plásticos individuais, mantidas sob refrigeração por aproximadamente 18h para facilitar a distribuição e absorção uniforme da água na farinha. A extrusão para a elaboração da farinha pré-cozida teve início de acordo com os parâmetros pré-estabelecidos, e após estabilização da extrusora para cada tratamento iniciou-se a coleta das amostras em bandejas (Figura 24). Esses extrudados foram secos em secador adiabático com ventilação forçada, tipo cabine, a 60°C por 4h, até atingirem umidade inferior a 8%, conferindo maior tempo de armazenamento. Parte dos extrudados foi moída e outra não, ambos armazenados em sacolas plásticas herméticas até sua utilização. Esta moagem foi realizada em dois moinhos: na primeira moagem utilizou-se moinho de disco Laboratory Mill 3600 no nível 2, Perten (Suécia) para fragmentação do extrudado, que foi então processado no segundo moinho do tipo martelo Laboratory Mill 3100 usando peneira de 0,8mm, Perten (Suécia). Dessa forma obteve-se a farinha do extrudado para sua caracterização.



Figura 24. Extrudado coletado em bandejas (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

2.3.5 Classificação Granulométrica

Realizou-se a classificação granulométrica das farinhas utilizadas no processamento por extrusão termoplástica: farinhas de sorgo sem tratamento enzimático (obtida conforme descrito no item 2.3.3.1) e as com tratamentos enzimáticos (obtidas conforme descrito no item 2.3.3.2). Esta análise foi realizada em duplicata para cada uma das amostras conforme descrito no item 1.3.9 do Capítulo I.

2.3.6 Avaliação Física dos Extrudados quanto ao Índice de Expansão Radial (IER)

Determinou-se o índice de expansão radial (IER) utilizando a equação 11, conforme metodologia descrita por Alvarez-Martinez *et al.* (1988). O diâmetro dos extrudados foi verificado com uso de um paquímetro Disma 6'' (São Paulo, Brasil). A medição foi realizada em três pontos distintos de cada extrudado (cortados em pedaços de, aproximadamente, 5cm de comprimento cada) em um total de 10 repetições.

$$\text{IER} = [D/D_0]^2 \quad (\text{Eq 11})$$

onde:

D: diâmetro do extrudado ao atingir a temperatura ambiente;

D₀: diâmetro da matriz

2.3.7 Avaliação Físico-Química da Matéria-Prima, das Farinhas Tratadas por Enzimas e Pré-cozidas por Extrusão

2.3.7.1 Determinação da concentração do ácido fítico

O teor de ácido fítico na matéria-prima foi avaliado após tratamento enzimático e na farinha pré-cozida por extrusão segundo metodologia descrita na AOAC (2010, método 986.11 modificado). A amostra foi moída em dois moinhos, conforme descrito no item 2.3.4, para facilitar a extração do ácido fítico, que foi extraído com 40mL de solução de HCl 2,4% sob agitação por 3h, e centrifugada durante 15min seguida de filtração a vácuo. Cerca de 1mL do extrato obtido foi misturado com 1mL de Na₂EDTA-NaOH e avolumado para balão volumétrico de 25mL, logo após transferido quantitativamente para uma coluna BIORAD empacotada com resina de troca aniônica AG1-X4, onde o fitato fica retido. Em seguida o fitato foi eluído com solução de NaCl 0,7M em balão de digestão micro-Kjeldahl de 100mL, sendo digerido a quente com H₂SO₄ e HNO₃. Após digestão ácida, a solução foi transferida quantitativamente para balão volumétrico de 50mL. Adicionou-se 2mL de solução de molibdato de amônio, 1mL de solução do reagente ácido sulfônico e avolumou-se o balão. Após 15min de reação com formação de cor azul, realizou-se leitura em espectrofotômetro a 640 nm. O ácido fítico foi calculado baseando-se na quantidade de fósforo liberado. Pelo método modificado não ocorreu a digestão do eluato e a leitura foi direta, conforme segue: o fitato foi eluído com solução de HCl 2M, substituindo o NaCl 0,7M utilizado no método oficial, e na fração recolhida avolumada para balão de 25mL, realizou-se análise no espectrômetro de emissão atômica por plasma inductivamente acoplado ICP-OES (Perkin Elmer Optima 2100 DV). Não houve diferença significativa entre os métodos (FREITAS et al., 2011).

2.3.7.2 Determinação do índice de solubilidade em água (ISA) e índice de absorção de água (IAA)

As determinações do índice de solubilidade em água (ISA) e índice de absorção de água (IAA) foram realizadas na matéria-prima, após tratamento enzimático e na farinha pré-cozida por extrusão, segundo metodologia descrita por Anderson et al. (1969b) modificada. A amostra foi moída, conforme descrito no item 2.3.4, peneirada em agitador de peneiras RO-TAP, modelo RX-29-10 (Mentor, EUA), e a fração retida entre as peneiras de 212 e 106µm foi utilizada para esta análise. Em quadruplicata, pesou-se aproximadamente 1g de cada amostra (em base seca) em tubos de centrifuga tipo Falcon 50mL previamente tarados, em seguida adicionou-se cerca de 10mL de água destilada, agitando e homogeneizando completamente o material. Os tubos foram submetidos à agitação mecânica, através do agitador de tubos de ensaio tipo Vortex, para garantir a homogeneização perfeita do material. Em seguida, os tubos contendo as amostras sofreram agitação por 30 minutos em um agitador horizontal mecânico, tipo Shaker Bath da marca Eberback 625. Logo após, os tubos foram colocados em uma centrífuga, modelo Z-383, marca Hermle, por 15 minutos sob rotação de 3500rpm.

Após centrifugação, os sobrenadantes foram vertidos em placas de petri, previamente taradas, e então colocados em estufa com circulação de ar, modelo 170, marca Fabbe (São Paulo, Brasil) a 105 °C por 4 horas. Transferiram-se as placas para um dessecador por 30 minutos até temperatura ambiente e logo após foram pesadas.

Com o valor da diferença entre as placas antes e depois da secagem dividido pelo peso da amostra e multiplicado por 100, encontrou-se o percentual de resíduo que se solubilizou na água destilada adicionada no início da análise (Equação 12).

$$\text{ISA} = \frac{\text{Peso do desidratado}}{\text{Peso inicial da amostra}} * 100 \text{ (Eq 12)}$$

Os tubos retirados da centrífuga, sem o sobrenadante, foram pesados e juntamente com o peso da amostra e o peso do resíduo que se solubilizou na água destilada, o IAA foi calculado, em g de gel/g de matéria seca, de acordo com a equação 13 adaptada por Hashimoto e Grossmann (2003).

$$\text{IAA} = \frac{\text{Peso do precipitado}}{\text{Peso inicial da amostra}} \text{ (Eq 13)}$$

2.3.7.3 Determinação da viscosidade de pasta

A viscosidade de pasta foi determinada em um “Rapid Visco Analyser” (RVA) (Figura 25), modelo RVA-4, marca Newport Scientific Pty. Ltd., (Sidney, Austrália), na matéria-prima, na farinha após tratamento enzimático e na farinha pré-cozida por extrusão seguindo-se a metodologia para materiais extrudados.

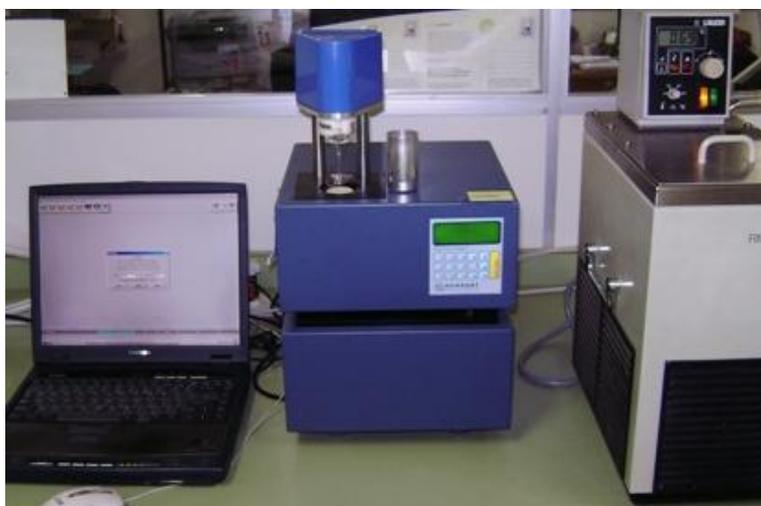


Figura 25. “Rapid Visco Analyser” (RVA), RVA-4, Newport Scientific Pty. Ltd. (Sidney, Austrália) (Créditos: Gaspar D. M. Ramos).

De acordo com Becker et al. (2001) a diferença no tamanho de partículas entre as amostras pode ocasionar má interpretação dos resultados. Sendo assim, os autores recomendam que o material seja peneirado obtendo-se partículas entre 125 e 250 µm aproximadamente. Com isso, a amostra foi moída, conforme descrito no item 2.3.4, e depois peneiradas em agitador de peneiras RO-TAP, modelo RX-29-10 (Mentor, EUA), e a fração retida entre as peneiras de 212 e 106µm foi utilizada para esta análise. Realizou-se a viscosidade de pasta em duplicata para cada tratamento.

Para a análise no RVA, 3g de farinha com umidade corrigida para 14% (em base úmida) foi adicionada de água destilada até peso final de 28g (ASCHERI et al., 2006b). O programa no equipamento utilizado contendo o perfil da análise foi “extrusion 1 no-alcohol”. Elevou-se a temperatura inicial de 25°C até 95°C, com uma taxa de aquecimento de 14°C minuto⁻¹, permanecendo constante por 3 minutos a 95°C. Gradualmente resfriou-se até atingir a temperatura final de 25°C, totalizando 20 minutos de análise. Na interpretação dos resultados, consideram-se os seguintes parâmetros:

a) Viscosidade de pasta inicial a 25°C ou viscosidade a frio (VI25): valor máximo de viscosidade (em cP) no início do ciclo de aquecimento, que depende (principalmente) do grau de cozimento dos grânulos de amido e da magnitude da sua quebra molecular durante o processo de extrusão;

b) Viscosidade de pasta máxima a 95°C (VMáx): valor da viscosidade (em cP) no ponto máximo da curva, obtido durante o ciclo de aquecimento a 95°C;

e) Viscosidade de pasta final (VF): valor da viscosidade (em cP) observado ao final da análise a 25°C quando os elementos presentes na pasta começam a se associar ou retrogradar, aumentando a viscosidade.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Classificação Granulométrica

Um fator de qualidade na matéria-prima, relacionado com a moagem, para o processo de extrusão termoplástica é a distribuição granulométrica, a qual tem influência com o grau de cocção podendo diminuir a qualidade do produto tanto na aparência como na palatabilidade (FELLOWS, 2006; ASCHERI; CARVALHO, 2008).

A uniformidade no tamanho das partículas da matéria-prima é importante em seu condicionamento e processamento, pois partículas menores são hidratadas e cozidas mais rapidamente do que partículas maiores, sendo o primeiro de acordo com os princípios da difusividade da água. Isso gera um produto final com diferentes graus de cozimento, o qual diminui a qualidade do produto final (FELLOWS, 2006; ASCHERI; CARVALHO, 2008). Também é importante para prevenir a segregação durante a mistura e o transporte antes da extrusão (ASCHERI; CARVALHO, 2008).

Devido à influência do tamanho da partícula no processo de extrusão, buscou-se padronizar a moagem da matéria-prima para os diferentes tratamentos (tratamento com enzimas comercial e Embrapa, e sem enzima-controle) utilizando um moinho de disco, na abertura de nível dois, nestas três diferentes matérias-primas. Conforme a distribuição granulométrica destas matérias-primas (Figura 26) observou-se uma razoável similaridade entre a granulometria das matérias-primas sem tratamento enzimático (controle), com tratamento enzimático com enzima comercial e com enzima Embrapa, cujas percentagens foram 81,1, 78,4 e 80,3%, respectivamente, retidas nas peneiras de granulometria entre 425 e 1180 μ m. Portanto, a granulometria não influenciou quanto à comparação dos extrudados das diferentes matérias-prima.

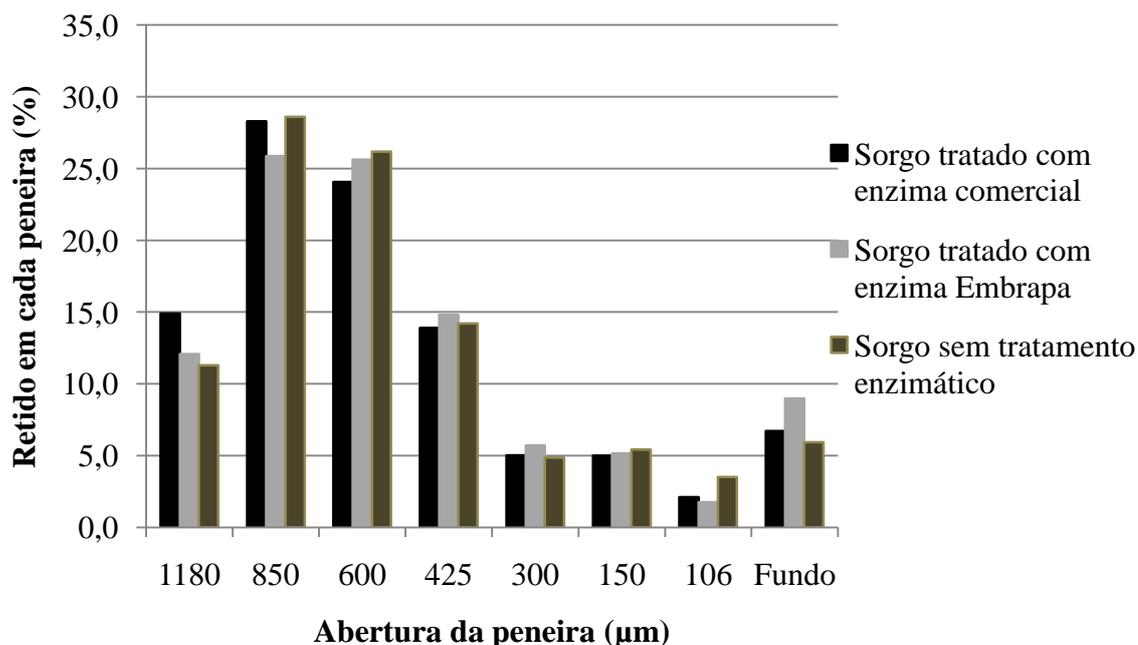


Figura 26. Classificação granulométrica das matérias-primas submetidas ao processo de extrusão termoplástica: farinhas de sorgo sem tratamento enzimático (controle), tratada com enzima comercial e tratada com enzima Embrapa.

Ramos et al. (2011) verificaram que a granulometria da farinha de sorgo influenciou nas características dos extrudados. Observaram que o aumento do tamanho da partícula resultou em um aumento dos índices de expansão radial e absorção de água, porém para o índice de solubilidade em água ocorreu o oposto, pois na farinha extrudada com granulometria menor houve maior severidade do tratamento, promovendo maior dextrinização do amido e conseqüentemente aumentando sua solubilidade. Carvalho et al. (2011) também verificaram a influência da granulometria, a qual resultou em um aumento do índice de expansão radial do extrudado com o aumento do tamanho da partícula da farinha de milho.

2.4.2 Índice de Expansão Radial (IER)

Os resultados quanto ao IER dos extrudados de farinha de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) encontram-se na Tabela 5. Esses dados foram utilizados para a análise variância (ANOVA) e para os gráficos de superfície de resposta da variável resposta IER.

Tabela 5. Índice de expansão radial (IER) dos extrudados de farinha de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático).

| Tratamentos | X ₁ | X ₂ | B1 (enzima comercial)* | B2 (enzima Embrapa)** | B3 (controle - sem enzima)*** |
|-------------|----------------|----------------|------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| | | | IER | IER | IER |
| T1 | 160 | 14 | 3,04 | 3,76 | - |
| T2 | 160 | 18 | 1,96 | 2,32 | - |
| T3 | 120 | 14 | 2,47 | 4,25 | - |
| T4 | 120 | 18 | 1,98 | 3,32 | - |
| T5 | 111,72 | 16 | 3,34 | 3,72 | - |
| T6 | 168,28 | 16 | 2,81 | 3,10 | - |
| T7 | 140 | 13,17 | 2,43 | 3,57 | - |
| T8 | 140 | 18,83 | 1,44 | 2,15 | - |
| T9 | 140 | 16 | 3,09 | 3,50 | 4,91 |
| T10 | 140 | 16 | 3,35 | 3,52 | 4,70 |
| T11 | 140 | 16 | 3,17 | 3,56 | 5,38 |
| T12 | 140 | 16 | 3,16 | 3,26 | 5,15 |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada ou não enzimaticamente (%); IER: Índice de Expansão Radial; *Bloco 1 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial; **Bloco 2 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa; ***Bloco 3 - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático.

A média dos resultados de IER do ponto central dos extrudados de farinha de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) foi de 3,19, 3,46 e 5,03, respectivamente (Tabela 6). Os resultados mostraram que não houve diferença significativa dos IER nos extrudados de farinha de sorgo tratada enzimaticamente, mas houve em relação ao controle (sem tratamento enzimático). O tratamento enzimático da farinha foi realizado previamente com um uso de biorreator sob agitação com posterior secagem, cuja umidade inicial estava em cerca de 60% passando para valores inferiores a 13%. Dessa forma, a fitase hidrolisa o ácido fítico presente na farinha de sorgo liberando fosfatos e, segundo Ascheri e Carvalho (2008) a presença de fosfato pode influenciar nas propriedades do amido devido suas características aniônicas, além da agitação e aquecimento, dependendo da intensidade,

podem promover a quebra de pontes de hidrogênio, o que permite a penetração de água dentro do grânulo de amido. Com isso, esses processos podem ter modificado interações moleculares na farinha de sorgo causando alterações do perfil do extrudado quanto ao IER comparado com o controle que só passou pelo processo de extrusão.

A expansão do extrudado depende, principalmente, do pré-cozimento do amido e da subsequente expansão do vapor de água originada pela queda de pressão na saída do material pela matriz do extrusor. Essa queda de pressão promove uma vaporização instantânea da água presente na massa fundida que sai pela matriz promovendo uma expansão do produto. Outro fator que influencia na expansão é a composição da matéria-prima, como exemplo, grãos integrais expandem menos que amidos puros (ASCHERI; CARVALHO, 2008). Ascheri et al. (2006a) verificou que houve diminuição do IER do extrudado de farinha mista de arroz polido e bagaço de jabuticaba, com a adição de farinha de bagaço de jabuticaba devido ao aumento da concentração de fibras. Nesse trabalho de tese devido à utilização de sorgo integral teve-se, conseqüentemente, influência de fibras, minerais e lipídeos na expansão do extrudado.

Tabela 6. Média dos resultados de IER do ponto central dos extrudados de farinha de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático).

| Amostra* | IER** |
|-----------------|-------------------|
| B1PC | 3,19 ^a |
| B2PC | 3,46 ^a |
| B3PC (controle) | 5,03 ^b |

*B1 lê-se Bloco 1 - extrudado de farinha de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial; B2 lê-se Bloco 2 - extrudado de farinha de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase Embrapa; B3 lê-se Bloco 3 - extrudado de farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático; Tratamentos: B1PC, B2PC e B3PC são pontos centrais (140°C, 16% umidade). **Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ($p \leq 0,05$); Média de 4 repetições.

Conforme Tabela 7, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão, aplicados a variável resposta IER referente aos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), mostraram que os dados experimentais se ajustaram ao modelo quadrático proposto. O valor do coeficiente de determinação da regressão foi 0,932, explicando 93% da variável resposta, atribuindo apenas 7% ao erro experimental. O intercepto foi significativo ($p < 0,0001$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$). Verificou-se que somente a variável umidade influenciou significativamente o IER com efeitos lineares e quadráticos.

Tabela 7. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|--------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 3,19 | - | 0,00001 ^{***} |
| X ₁ | -0,02 | 0,40 | 0,56982 ^{n.s.} |
| X ₁ ² | -0,09 | 4,64 | 0,12032 ^{n.s.} |
| X ₂ | -0,37 | 89,71 | 0,00249 [*] |
| X ₂ ² | -0,66 | 229,83 | 0,00062 ^{**} |
| X ₁ .X ₂ | -0,15 | 7,08 | 0,07628 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 6,92 | 0,07316 ^{n.s.} |
| R²: 0,93239 | | | |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase comercial (%); ^{n.s.} não significativo; ^{*} significativo a 1% de probabilidade; ^{**} significativo a 0,1% de probabilidade; ^{***} significativo a 0,01% de probabilidade.

A confirmação da validade dos coeficientes e construção do modelo foi realizada através análise de variância conforme a Tabela 8, onde se verificou que o F calculado (F_{calc}) para a regressão foi 13,79, altamente significativo quando comparado com o F tabelado (F_{tab}) de 4,39 referente ao bloco 1.

Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) para a variável resposta índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fonte de Variação | Soma Quadrática | Gráus de Liberdade | Média Quadrática | F _{calc} |
|-------------------------------|-----------------|--------------------|------------------|-------------------|
| Regressão | 4,03 | 5 | 0,81 | 13,79 |
| Resíduos | 0,29 | 6 | 0,05 | |
| Total | 4,32 | 11 | | |
| R²: 0,93239 | | | | |
| F_{tab}: 4,39 | | | | |

Observou-se que a umidade exerceu um efeito linear negativo (p<0,01) e um efeito quadrático (p<0,001) sobre o IER. Com o aumento do teor de umidade tem-se uma diminuição do IER. Vários trabalhos têm demonstrado que IER decresce significativamente com o aumento do teor de umidade, sendo evidenciado por Silva (2010) em extrudado de milho e feijão, Silva e Ascheri (2009) em extrudado de farinha de quirera de arroz, Clerici e El-Dash (2008) em farinha de arroz, Ding et al. (2005) em extrudado de farinha de arroz. Segundo Silva (2010), o aumento do conteúdo de água favorece, juntamente com o calor aplicado, a modificação do amido. Entretanto, a água exerce um efeito lubrificante dentro do canhão reduzindo a taxa de cisalhamento, assim como a temperatura interna no extrusor. Com isso, pode ocorrer a redução do cozimento do material e conseqüentemente da sua expansão.

De acordo com a Tabela 7, utilizou-se somente os coeficientes de regressão significativos para elaboração do modelo matemático proposto das variáveis independentes codificadas (Equação 14) referente ao bloco 1.

$$\text{IER} = 3,19 - 0,37X_2 - 0,66X_2^2 \quad (\text{Eq 14})$$

Definido o modelo, foi possível gerar a superfície de resposta (Figura 27) com o efeito das variáveis umidade e temperatura na variável resposta IER. Observou-se que os valores de IER variaram de 1,44 a 3,35, referentes aos tratamentos 8 de alta umidade e 10 de umidade mais baixa, respectivamente. Silva (2010) em extrudado de milho e feijão verificou valores de IER entre 4,54 e 35,33, Silva e Ascheri (2009) em extrudado de farinha de quirera de arroz entre 3,44 e 11,22, Clerici e El-Dash (2008) em farinha de arroz entre 1,88 e 9,49, Youssef et al. (1990) em extrudado de farinha sorgo e outros cereais entre 1,74 e 4,24. Este último com resultados próximos ao encontrado no presente estudo, provavelmente devido ao uso do sorgo na forma integral comparado aos outros com matérias-primas cujos grãos foram empregados sem casca, onde contém fibras que desfavorecem a expansão.

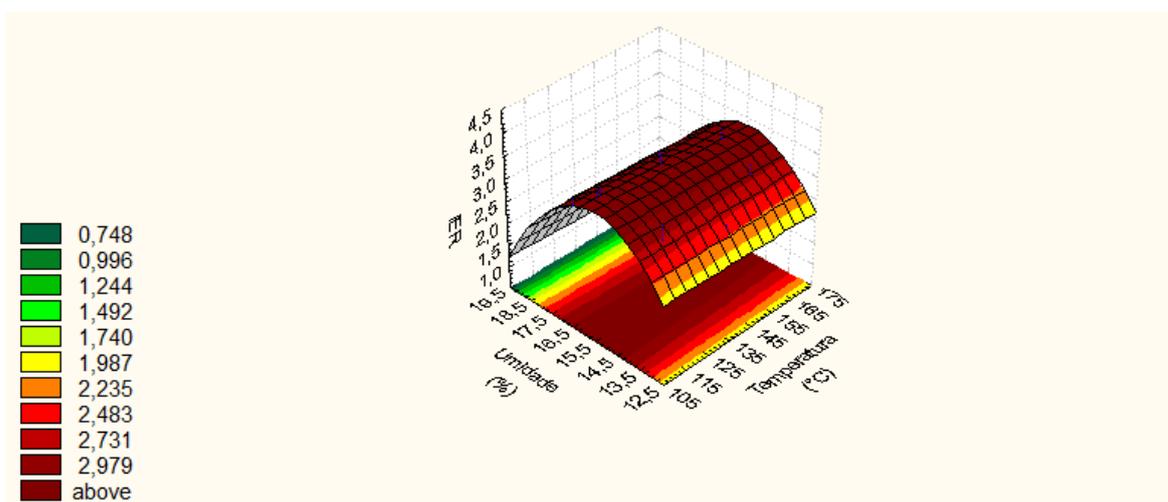


Figura 27. Efeito das variáveis quantitativas temperatura (°C) e umidade (%) no índice de expansão radial das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial.

Conforme Tabela 9, os resultados da análise de variância e coeficiente de regressão, aplicados a variável resposta IER referente aos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), mostraram que os dados experimentais se ajustaram ao modelo quadrático proposto. O valor do coeficiente de determinação da regressão foi 0,9288, explicando 93% da variável resposta, atribuindo apenas 7% ao erro experimental. O intercepto foi significativo ($p < 0,0001$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$). Verificou-se que a variável temperatura influenciou significativamente o IER com efeito linear e a umidade influenciou significativamente o IER com efeitos lineares e quadráticos.

Tabela 9. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fator | Coeficiente de Regressão | Teste F | P |
|--------------------------------|--------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 3,46 | - | 0,00002 ^{***} |
| X ₁ | -0,30 | 38,06 | 0,00857 ^{**} |
| X ₁ ² | 0,04 | 0,69 | 0,46856 ^{n.s.} |
| X ₂ | -0,55 | 130,22 | 0,00144 ^{**} |
| X ₂ ² | -0,23 | 18,50 | 0,02312 [*] |
| X ₁ .X ₂ | -0,13 | 3,53 | 0,15671 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 3,94 | 0,14494 ^{n.s.} |
| R²: 0,92881 | | | |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase Embrapa (%); ^{n.s.} não significativo; ^{*} significativo a 5% de probabilidade; ^{**} significativo a 1% de probabilidade; ^{***} significativo a 0,01% de probabilidade.

A confirmação da validade dos coeficientes e construção do modelo foi realizada através análise de variância conforme a Tabela 10, onde se verificou que o F calculado (F_{calc}) para a regressão foi 13,05, altamente significativo quando comparado com o F tabelado (F_{tab}) de 4,39 referente ao bloco 2.

Tabela 10. Análise de variância (ANOVA) para a variável resposta índice de expansão radial (IER) dos extrudados de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fonte de Variação | Soma Quadrática | Graus de Liberdade | Média Quadrática | F _{calc} |
|-------------------------------|-----------------|--------------------|------------------|-------------------|
| Regressão | 3,56 | 5 | 0,71 | 13,05 |
| Resíduos | 0,27 | 6 | 0,05 | |
| Total | 3,83 | 11 | | |
| R²: 0,92881 | | | | |
| F_{tab}: 4,39 | | | | |

Observou-se que a umidade exerceu um efeito linear negativo (p<0,01) e um efeito quadrático (p<0,05) sobre o IER. Efeito igual ao encontrado no bloco 1, com o aumento do teor de umidade tem-se uma diminuição do IER. A temperatura exerceu um efeito linear negativo (p<0,01) sobre o IER, diferentemente do que aconteceu no bloco 1, cuja temperatura não influenciou significativamente o IER. Assim como Al-Rabadi et al. (2011) não verificou efeito significativo da temperatura sobre o IER em extrudado de sorgo.

Alguns trabalhos têm demonstrado que IER aumenta significativamente com o aumento da temperatura, sendo evidenciado por Ding et al. (2005) em extrudado de farinha de arroz, Oliveira (2007) em extrudado de farinha mista de milho e casca de soja, Pelembe et al. (2002) em extrudado de sorgo e caupi sem casca. Já outros autores encontraram o efeito inverso da temperatura sobre o IER. Leonel et al. (2006) observou efeito inverso da temperatura em extrudados de inhame, assim como encontrado nesse trabalho no bloco 2. Segundo Ascheri e Carvalho (2008), o aumento da temperatura promove maior cozimento do amido, que ao sair do extrusor tende a se expandir mais. Porém, até certo limite, dada uma temperatura que começa a diminuir essa expansão devido a uma degradação mais intensa do amido.

De acordo com a Tabela 9, utilizou-se somente os coeficientes de regressão significativos para elaboração do modelo matemático proposto das variáveis independentes codificadas (Equação 15) referente ao bloco 2.

$$\text{IER} = 3,46 - 0,30X_1 - 0,55X_2 - 0,23X_2^2 \quad (\text{Eq 15})$$

Definido o modelo, foi possível gerar a superfície de resposta (Figura 28) com o efeito das variáveis umidade e temperatura na variável resposta IER. Observou-se que os valores de IER variaram de 2,15 a 4,25, referentes aos tratamentos 8 (alta umidade e média temperatura) e 3 (umidade e temperatura mais baixa), respectivamente.

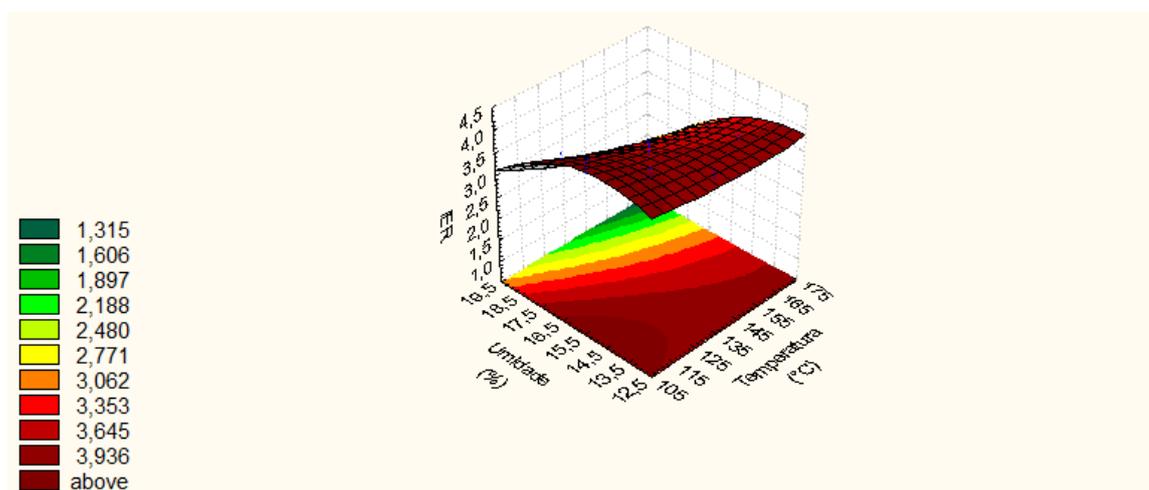


Figura 28. Efeito das variáveis quantitativas temperatura (°C) e umidade (%) no índice de expansão radial das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa.

2.4.3 Índice de Solubilidade em Água (ISA) e Índice de Absorção de Água (IAA) das Farinhas de Sorgo Integral

Os resultados quanto ao ISA e IAA das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas encontram-se na Tabela 11. Esses dados foram utilizados para a análise variância (ANOVA) e para os gráficos de superfície de resposta das variáveis respostas ISA e IAA.

O ISA da farinha de sorgo (MP) sem tratamento enzimático foi de 1,78% e com os tratamentos enzimáticos se observou que este índice aumentou nas duas farinhas tratadas. O ISA da farinha tratada com fitase comercial ficou inferior ao da tratada com fitase Embrapa com 4,61 e 7,15%, respectivamente (Tabela 11). Esse aumento em relação à matéria-prima sem tratamento enzimático, provavelmente, foi provocado pelo processamento desta, que promoveu a liberação de minerais da estrutura celular do vegetal, e também pode ter favorecido a solubilização de proteínas, além dos sais (solução tampão) e das enzimas adicionados ao processo. Comparando os ISAs das farinhas tratadas com fitase, o extrato enzimático preparado laboratorialmente (fitase Embrapa) não estava purificado, conforme a enzima comercial, ou seja, era um extrato bruto que além da fitase continha outros sólidos, como proteínas, minerais, hidratos de carbono, e até outras enzimas tais como celulases, pectinases que poderiam ter hidrolisado outras moléculas aumentando assim a concentração de sólidos solúveis.

Tabela 11. Índice de solubilidade em água (ISA) e índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas.

| Tratamentos | X ₁ | X ₂ | B1 (enzima comercial)* | | B2 (enzima Embrapa)** | | B3 (controle - sem enzima)*** | |
|-------------|----------------|----------------|------------------------|------|-----------------------|------|-------------------------------|------|
| | | | ISA | IAA | ISA | IAA | ISA | IAA |
| T1 | 160 | 14 | 8,59 | 5,04 | 8,41 | 4,45 | - | - |
| T2 | 160 | 18 | 9,08 | 5,04 | 6,90 | 4,54 | - | - |
| T3 | 120 | 14 | 8,40 | 4,85 | 8,57 | 4,80 | - | - |
| T4 | 120 | 18 | 6,91 | 6,15 | 7,22 | 4,57 | - | - |
| T5 | 111,72 | 16 | 5,17 | 5,92 | 6,42 | 5,71 | - | - |
| T6 | 168,28 | 16 | 6,72 | 4,58 | 8,32 | 4,92 | - | - |
| T7 | 140 | 13,17 | 12,94 | 4,62 | 7,82 | 4,70 | - | - |
| T8 | 140 | 18,83 | 10,86 | 5,38 | 8,61 | 4,62 | - | - |
| T9 | 140 | 16 | 9,13 | 5,56 | 8,29 | 4,71 | 9,86 | 4,77 |
| T10 | 140 | 16 | 10,43 | 5,81 | 7,75 | 4,58 | 10,02 | 4,66 |
| T11 | 140 | 16 | 5,57 | 5,49 | 8,31 | 4,93 | 10,02 | 4,43 |
| T12 | 140 | 16 | 6,12 | 5,41 | 8,26 | 4,59 | 10,06 | 4,98 |
| MP**** | - | - | 4,61 | 2,66 | 7,15 | 2,58 | 1,78 | 2,77 |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada ou não enzimaticamente (%); ISA: Índice de Solubilidade em Água (%); IAA: Índice de Absorção de Água (g gel.g⁻¹ de matéria seca); *Bloco 1 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial; **Bloco 2 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa; ***Bloco 3 - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático; ****Matérias-primas usadas no processo de extrusão termoplástica referentes aos blocos 1, 2 e 3.

A média dos resultados de ISA do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) foi de 7,81, 8,15 e 10,0%, respectivamente (Tabela 12). Os resultados mostraram que não houve diferença significativa dos ISA nas farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente e sem tratamento enzimático. Observou-se que os valores médios de ISA (Tabela 12), referentes ao ponto central, dos produtos extrudados nos diferentes blocos ficaram acima dos valores de ISA das respectivas matérias-primas (Tabela 11), principalmente dos extrudados sem tratamento enzimático.

Tabela 12. Média dos resultados de ISA e IAA do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático)

| Amostra* | ISA** (%) | IAA** (g gel.g ⁻¹ de matéria seca) |
|-----------------|-------------------|--|
| B1PC | 7,81 ^a | 5,57 ^a |
| B2PC | 8,15 ^a | 4,70 ^b |
| B3PC (controle) | 10,0 ^a | 4,71 ^b |

*B1 lê-se Bloco 1 - farinha extrudada de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial; B2 lê-se Bloco 2 - farinha extrudada de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase Embrapa; B3 lê-se Bloco 3 - farinha extrudada de sorgo integral sem tratamento enzimático; Tratamentos: B1PC, B2PC e B3PC são pontos centrais (140°C, 16% umidade). **Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si (p<0,05); Média de 4 repetições.

Conforme Tabela 13, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que nenhuma variável (temperatura e umidade) influenciou significativamente o ISA referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1). O intercepto foi significativo ($p < 0,01$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$).

Tabela 13. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de solubilidade em água (ISA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2)

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|-------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 7,81 | - | 0,00688* |
| X_1 | 0,57 | 0,47 | 0,54162 ^{n.s.} |
| X_1^2 | -1,10 | 1,42 | 0,31940 ^{n.s.} |
| X_2 | -0,49 | 0,35 | 0,59399 ^{n.s.} |
| X_2^2 | 1,87 | 4,09 | 0,13624 ^{n.s.} |
| $X_1.X_2$ | 0,50 | 0,18 | 0,70119 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 0,08 | 0,96395 ^{n.s.} |
| R²: 0,70425 | | | |

X_1 : Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X_2 : Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase comercial (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 1% de probabilidade.

Observou-se que nenhuma variável exerceu efeito significativo sobre o ISA com valores médios, referentes ao ponto central dos diferentes blocos (B1, B2 e B3), de 7,81, 8,15 e 10,0, respectivamente (Tabela 12). Al-Rabadi et al. (2011) não verificou efeito significativo da temperatura sobre o ISA em farinha extrudada com valor de 3,4%. Silva (2010) em farinha extrudada de milho e feijão verificou valores de ISA entre 9,60 e 20,64% e não observou influência significativa para umidade. Clerici e El-Dash (2008) em farinha extrudada de arroz verificaram que os resultados do ISA não apresentaram variação significativa, com valor médio de 14,22%. Silva e Ascheri (2009) em farinha extrudada de quirera de arroz verificaram valores de ISA entre 7,24 e 12,76%.

Bustos (1988) encontrou valores de ISA entre 3,10 e 3,43% para farinhas de sorgo integral extrudadas da variedade 9A e valores entre 4,33 e 4,70% para variedade 145 nas condições selecionadas para obtenção de farinhas instantâneas para tortillas. Valores abaixo do encontrado neste trabalho de tese conforme Tabela 12.

Outros trabalhos têm demonstrado que o ISA teve influência significativa com efeito positivo para os tratamentos mais severos. Pelembe et al. (2002) em farinha extrudada de sorgo e caupi sem casca verificaram valores de ISA entre 7,7 e 9,5%, cujo valor foi maior na temperatura mais elevada de extrusão e justificaram como provável causa a dextrinização e despolimerização do amido em temperaturas mais altas, reduzindo o peso molecular das cadeias de amilose e amilopectina. Leonel et al. (2006) em farinha extrudada de inhame verificaram valores de ISA entre 47,15 e 70,77, e observaram um efeito positivo para a temperatura e negativo para umidade, o mesmo encontrado por Ding et al. (2005) em das farinha extrudada de arroz e Srebernich (1989) em farinha extrudada de amido de sorgo.

Srebernich (1989) avaliou as características do amido de sorgo submetido à extrusão termoplástica e verificou valores de ISA entre 25,38 e 69,83%. Segundo Srebernich o aumento da solubilidade foi observado nos produtos extrudados em condições mais severas de processo, baixa umidade e alta temperatura, e justificou como causa a desintegração da estrutura molecular do amido devido ao alto cisalhamento, obtendo produtos de peso

molecular mais baixo, conseqüentemente facilitando sua solubilização. Valores bem acima do encontrado neste trabalho de tese (Tabela 12), pois foi utilizado farinha de sorgo integral. Com isso houve influência das fibras, proteínas, minerais, lipídeos, como discutido anteriormente, diminuindo consideravelmente o ISA, já Srebernich (1989) utilizou apenas o amido do sorgo.

Ascheri et al. (2006a) em farinha mista de arroz e bagaço de jabuticaba verificaram para o ISA um efeito negativo para a temperatura, com o maior valor de seus tratamentos 17,55%. Observaram que a presença de fibras pode ter influenciado na diminuição do ISA devido interações entre a fibra e amido, além das proteínas que em altas temperaturas favorecem a produção de $-NH_2$ terminal pela desnaturação que ao reagir com os $-OH$ livres originados pela dextrinização do material amiláceo propiciaram a formação de complexos não solúveis.

Conforme Tabela 14, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que apenas a variável temperatura influenciou significativamente o ISA referente as farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2). Porém apenas 38% da variação total é explicada pelo modelo 62% aos resíduos e houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p < 0,05$).

Tabela 14. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de solubilidade em água (ISA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2)

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|-------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 8,15 | - | 0,00001 ^{**} |
| X_1 | 0,28 | 8,41 | 0,06253 ^{n.s.} |
| X_1^2 | -0,40 | 13,83 | 0,03383 [*] |
| X_2 | -0,22 | 5,24 | 0,10599 ^{n.s.} |
| X_2^2 | 0,03 | 0,06 | 0,81686 ^{n.s.} |
| $X_1.X_2$ | -0,04 | 0,09 | 0,78566 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 14,87 | 0,02633 [*] |
| R²: 0,37525 | | | |

X_1 : Temperatura na zona 3 do extrusor ($^{\circ}C$); X_2 : Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase Embrapa (%); ^{n.s.} não significativo; ^{*} significativo a 5% de probabilidade; ^{**} significativo a 0,01% de probabilidade.

O IAA das farinhas de sorgo (MP) tratadas com fitase comercial e fitase Embrapa e da farinha sem tratamento enzimático foi 2,66, 2,58 e 2,77g de gel/g de matéria seca (Tabela 11), respectivamente, e não se observou diferença entre estes índices. Contudo, Observou-se que os valores médios de IAA, 5,57, 4,70 e 4,71g de gel/g de matéria seca (Tabela 12), referentes ao ponto central, dos produtos extrudados nos diferentes blocos, 1, 2 e 3, respectivamente, ficaram acima dos valores de IAA das respectivas matérias-primas (Tabela 11). Segundo Carvalho et al. (2002) o amido pré-cozido absorve bem mais água do que em seu estado natural. Portanto, neste trabalho de tese, o processo de extrusão promoveu o pré-cozimento do amido presente nas farinhas de sorgo aumentando seu IAA.

Bustos (1988) encontrou valores de IAA entre 3,28 e 5,95 (g gel/g matéria seca) para farinhas de sorgo integral extrudadas da variedade 9A e valores entre 4,75 e 5,23 (g gel/g matéria seca) para variedade 145 nas condições selecionadas para obtenção de farinhas instantâneas para tortillas. Observou-se que essas farinhas apresentaram características tecnológicas parecidas às do milho nixtamalizado indicando sua possível utilização para elaboração de tortillas. E concluiu através de avaliação sensorial que a adição de 10% de

farinha de milho nixtamalizado às farinhas de sorgo extrudadas permitiu obter tortilhas com características similares a de farinha de milho nixtamalizado. Os valores encontrados neste trabalho de tese para IAA nos diferentes blocos (Tabela 12) encontram-se dentro da faixa encontrada por Bustos, indicando que as farinhas obtidas nesse trabalho poderiam ser testadas na produção de tortillas baseando-se no IAA.

Silva e Ascheri (2009) em farinha extrudada de quirera de arroz verificaram valores de IAA entre 6,10 e 7,76 g de gel/g de matéria seca.

Conforme Tabela 15, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão, aplicados a variável resposta IAA referente as farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), mostraram que os dados experimentais se ajustaram ao modelo quadrático proposto. O valor do coeficiente de determinação da regressão foi 0,908, explicando 91% da variável resposta, atribuindo apenas 9% ao erro experimental. O intercepto foi significativo ($p < 0,0001$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$). Verificou-se que as variáveis temperatura e umidade influenciaram significativamente o IAA com efeitos lineares e somente a umidade com efeito quadrático, a interação entre temperatura e umidade também influenciou.

Tabela 15. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2)

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|-----------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 5,57 | - | 0,00001** |
| X_1 | -0,35 | 33,14 | 0,01042* |
| X_1^2 | -0,12 | 3,21 | 0,17097 ^{n.s.} |
| X_2 | 0,30 | 23,58 | 0,01667* |
| X_2^2 | -0,25 | 13,12 | 0,03621* |
| $X_1.X_2$ | -0,33 | 14,13 | 0,03290* |
| Falta de ajuste | - | 1,86 | 0,31077 ^{n.s.} |

R^2 : 0,90833

X_1 : Temperatura na zona 3 do extrusor ($^{\circ}C$); X_2 : Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase comercial (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 5% de probabilidade; ** significativo a 0,01% de probabilidade.

A confirmação da validade dos coeficientes e construção do modelo foi realizada através de análise de variância conforme a Tabela 16, onde se verificou que o F_{calc} para a regressão foi 9,91 foi significativo quando comparado com o F_{tab} de 4,39 referente ao bloco 1.

Tabela 16. Análise de variância (ANOVA) para a variável resposta índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial, em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2)

| Fonte de Variação | Soma Quadrática | Graus de Liberdade | Média Quadrática | F_{calc} |
|-------------------|-----------------|--------------------|------------------|------------|
| Regressão | 2,55 | 5 | 0,51 | 9,91 |
| Resíduos | 0,26 | 6 | 0,04 | |
| Total | 2,80 | 11 | | |

R^2 : 0,90833

F_{tab} : 4,39

Observou-se que a temperatura exerceu efeito linear negativo ($p < 0,05$) e que a umidade exerceu efeito linear positivo ($p < 0,05$) e quadrático ($p < 0,05$) sobre o IAA. Ding et al. (2005) também verificou o mesmo efeito para umidade e temperatura em farinha extrudada de arroz. Porém Silva (2010) não observou influência significativa para umidade em farinhas extrudada de milho e feijão encontrando valores de IAA entre 4,60 e 6,31 (g de gel/g de matéria seca). E Nascimento (2010) não observou influência significativa da temperatura no IAA em farinha extrudada de milho com gergelim encontrando valores entre 6,15 e 7,07 (g gel/g matéria seca). Já Al-Rabadi et al. (2011) verificaram que a temperatura influenciou significativamente o IAA com efeito positivo em farinha extrudada de sorgo, assim como observado por Srebernich (1989) em farinha extrudada de amido de sorgo. E Clerici e El-Dash (2008) em farinha extrudada de arroz além do efeito positivo da temperatura verificaram um efeito negativo para umidade.

De acordo com a Tabela 15, utilizou-se somente os coeficientes de regressão significativos para elaboração do modelo matemático proposto das variáveis independentes codificadas (Equação 16) referente ao bloco 1.

$$\text{IAA} = 5,57 - 0,35X_1 + 0,30X_2 - 0,25X_2^2 - 0,33X_1 \cdot X_2 \quad (\text{Eq 16})$$

Definido o modelo, foi possível gerar a superfície de resposta (Figura 29) com o efeito das variáveis umidade e temperatura na variável resposta IAA. Observou-se que os valores de IAA variaram de 4,58 a 6,15, referentes aos tratamentos 6 (alta temperatura e média umidade) e 4 (baixa temperatura e alta umidade), respectivamente. Ou seja, altos teores de umidade e baixa temperatura ocasionaram maiores valores de IAA, igual ao verificado por Ding et al. (2005) em farinha extrudada de arroz. Pois a água funciona como um lubrificante da massa extrudada e conseqüentemente com seu aumento diminui o cisalhamento e atrito nas moléculas de amido provocado pelo parafuso e a parede interna do canhão do extrusor. Com isso, diminui a degradação do amido associado com a baixa temperatura ocasionando um aumento do IAA. Com temperatura alta e baixa umidade aumenta a severidade do processo ocasionado pela maior degradação do amido e dextrinização deste resultando em um maior ISA e menor IAA. Corroborando com o relatado por Ascheri e Carvalho (2008), Sriburi e Hill (2000), cujo amido submetido à ação da energia mecânica e/ou térmica de maior grandeza, o IAA decresce indicando destruição da integridade molecular do amido e início da dextrinização. Pelembe et al. (2002) em farinha extrudada de sorgo e caupi sem casca que verificaram valores de IAA entre 6,7 e 8,5 g de gel/g de matéria seca, cujo valor foi menor na temperatura mais elevada de extrusão e justificaram como provável causa à decomposição ou degradação de amido.

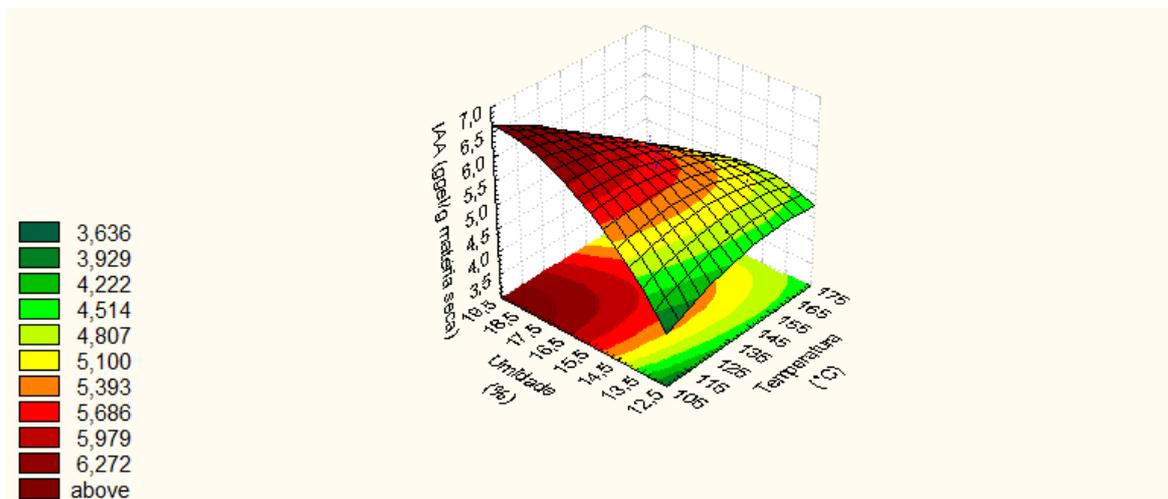


Figura 29. Efeito das variáveis quantitativas temperatura (°C) e umidade (%) no índice de absorção de água das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial.

Silva e Ascheri (2009) em farinha extrudada de quirera de arroz verificaram valores de IAA entre 6,10 e 7,76 g de gel/g de matéria seca, cujo primeiro em condições de baixa umidade e temperatura e o segundo em alta umidade e temperatura, mesmo efeito que o observado neste trabalho de tese quanto à umidade, mas contrário com a temperatura.

Clerici e El-Dash (2008) em farinha extrudada de arroz verificaram valores de IAA entre 6,97 e 9,02 g de gel/g de matéria seca, sendo influenciado significativamente pela temperatura e pela umidade, tendendo a atingir maiores valores nas mais altas temperaturas e mais baixas umidades. Al-Rabadi et al. (2011) em farinha extrudada de sorgo observaram que em baixa temperatura resultou em um menor IAA, com valores de 3,32 e 3,64 g de gel/g de matéria seca.

Srebernich (1989) avaliou as características do amido de sorgo submetidos à extrusão termoplástica e verificou valores de IAA entre 11,79 e 21,54 (g gel/g matéria seca). Verificou que a temperatura influenciou significativamente o IAA de forma positiva, mas a umidade não o influenciou. Valores bem acima do encontrado neste trabalho de tese (Tabela 12) que utilizou farinha de sorgo integral, ao invés de amido de sorgo. Com isso houve influência das fibras, proteínas, minerais, lipídeos presentes nesta farinha, como discutido anteriormente, diminuindo consideravelmente o IAA.

Conforme Tabela 17 os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que apenas a variável temperatura influenciou significativamente o IAA referente as farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2). A temperatura exerceu um efeito linear negativo conforme encontrado no bloco 1. Mas o valor do coeficiente de determinação da regressão foi 0,622, explicando 62% da variável resposta, atribuindo 38% ao erro experimental, que é considerado alto. Porém, não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$). Mesmo observado por Leonel et al. (2006) em farinha extrudada de inhame, cujo coeficiente de determinação da regressão foi 0,62 para IAA.

Tabela 17. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2)

| Fator | Coeficiente de Regressão | Teste F | P |
|----------------------------------|---------------------------------|----------------|--------------------------|
| Intercepto | 4,70 | - | 0,00001 ^{**} |
| X_1 | -0,19 | 10,58 | 0,047408 [*] |
| X_1^2 | 0,21 | 10,34 | 0,048754 [*] |
| X_2 | -0,03 | 0,30 | 0,620702 ^{n.s.} |
| X_2^2 | -0,12 | 3,52 | 0,157482 ^{n.s.} |
| $X_1.X_2$ | 0,08 | 0,97 | 0,39808 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 4,83 | 0,114126 ^{n.s.} |
| R^2: 0,62199 | | | |

X_1 : Temperatura na zona 3 do extrusor ($^{\circ}\text{C}$); X_2 : Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase Embrapa (%); ^{n.s.}não significativo; ^{*}significativo a 5% de probabilidade; ^{**}significativo a 0,01% de probabilidade.

2.4.4 Viscosidade de Pasta das Farinhas de Sorgo Integral

A viscosidade de pasta expressa em Centipoise (Cp) é utilizada como parâmetro para avaliar as modificações ocorridas na molécula de amido durante o processo de extrusão. Na maioria das matérias-primas utilizadas, o amido é o componente que apresenta maior relação com as propriedades reológicas dos produtos extrudados. Segundo Ding et al. (2005), a conversão de amido cru para um material cozido e de fácil digestão pela aplicação de água e calor, é um dos efeitos importantes que a extrusão promove no amido presente nos alimentos. A água é absorvida e ligada à molécula de amido com uma mudança resultante na estrutura dos grânulos de amido. A temperatura do extrusor e umidade de alimentação são os parâmetros que exercem o maior efeito na modificação do amido.

Os resultados quanto a viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas encontram-se na Tabela 18. Esses dados foram utilizados para a análise variância (ANOVA).

Tabela 18. Viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas.

| T* | X ₁ | X ₂ | B1 (enzima comercial) ^{***} | | | B2 (enzima Embrapa) ^{****} | | | B3 (controle - sem enzima) ^{*****} | | |
|------|----------------|----------------|--------------------------------------|-----------|---------|-------------------------------------|-----------|---------|---|-----------|---------|
| | | | VI25 (cP) | VMáx (cP) | VF (cP) | VI25 (cP) | VMáx (cP) | VF (cP) | VI25 (cP) | VMáx (cP) | VF (cP) |
| T1 | 160 | 14 | 59 | 64 | 46 | 60 | 109 | 77 | - | - | - |
| T2 | 160 | 18 | 72 | 78 | 78 | 30 | 82 | 48 | - | - | - |
| T3 | 120 | 14 | 51 | 71 | 43 | 26 | 76 | 45 | - | - | - |
| T4 | 120 | 18 | 42 | 83 | 65 | 17 | 73 | 42 | - | - | - |
| T5 | 111,72 | 16 | 47 | 121 | 83 | 47 | 95 | 65 | - | - | - |
| T6 | 168,28 | 16 | 37 | 101 | 66 | 35 | 85 | 63 | - | - | - |
| T7 | 140 | 13,17 | 38 | 42 | 36 | 40 | 84 | 64 | - | - | - |
| T8 | 140 | 18,83 | 128 | 87 | 91 | 39 | 105 | 74 | - | - | - |
| T9 | 140 | 16 | 52 | 113 | 79 | 43 | 96 | 75 | 346 | 231 | 255 |
| T10 | 140 | 16 | 51 | 71 | 55 | 56 | 104 | 68 | 331 | 229 | 241 |
| T11 | 140 | 16 | 48 | 123 | 78 | 53 | 98 | 71 | 361 | 210 | 219 |
| T12 | 140 | 16 | 35 | 107 | 75 | 33 | 83 | 53 | 320 | 205 | 229 |
| MP** | - | - | 28 | 468 | 1544 | 23 | 441 | 1374 | 10 | 419 | 1534 |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada ou não enzimaticamente (%); VI25: Viscosidade de Pasta Inicial a 25 °C; VMáx: Viscosidade de Pasta Máxima a 95°C; VF: Viscosidade de Pasta Final; * Tratamentos; ** Matérias-primas usadas no processo de extrusão termoplástica referentes aos blocos 1, 2 e 3; *** Bloco 1 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial; **** Bloco 2 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa; ***** Bloco 3 - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático.

Na Figura 30, observa-se as curvas de viscosidade de pasta das matérias-primas usadas no processo de extrusão termoplástica referentes aos blocos 1 (farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial), 2 (farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa) e 3 (farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático – controle) em função do tempo e temperatura.

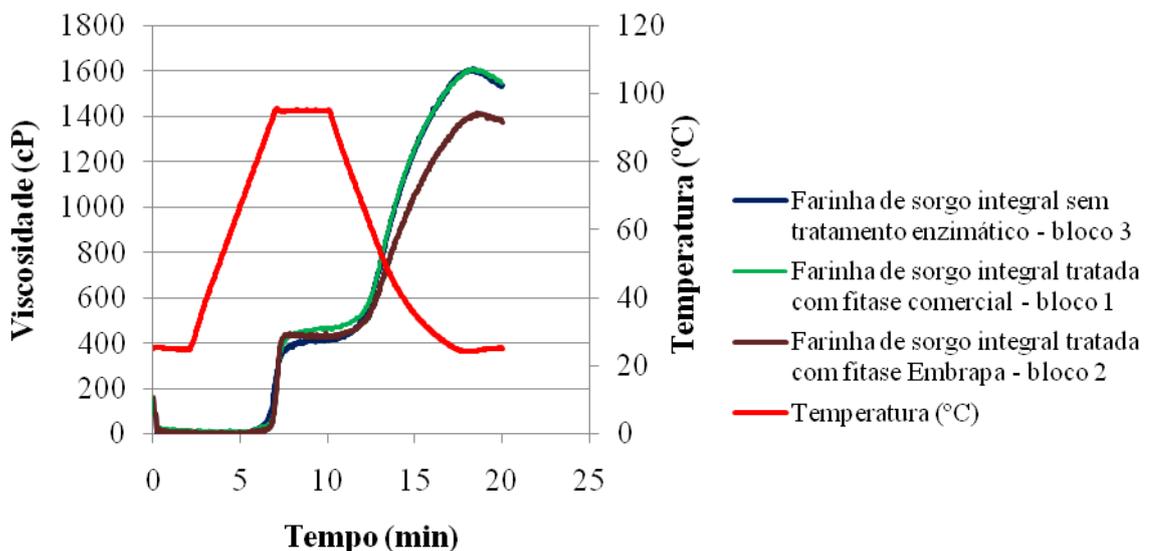


Figura 30. Curvas de viscosidade de pasta das matérias-primas usadas no processo de extrusão termoplástica referentes aos blocos 1, 2 e 3.

Observando o amilograma na Figura 30, no início da curva, cuja temperatura está a 25°C, a viscosidade das três matérias-primas é praticamente zero. De acordo com Carvalho et al. (2002), o amido nativo quase não absorve água à temperatura ambiente, sendo sua viscosidade em meio aquoso praticamente nula. Essa viscosidade inicial é conhecida como viscosidade de pasta inicial a 25°C ou a frio (VI25), sem a necessidade de aquecimento.

De acordo com Ascheri e Carvalho (2008), quando uma suspensão de amido é aquecida, os grânulos de amido não mudam de aparência até que uma temperatura crítica seja alcançada. Nessa temperatura, o grânulo começa a intumescer e simultaneamente perde suas características de birrefringência, indicando alterações na estrutura cristalina. As pontes de hidrogênio começam a se romper e os grânulos a inchar. Como consequência direta do intumescimento, ocorre um aumento da viscosidade da pasta. Nesse momento enquanto alguns grânulos estão inchando outros estão se desintegrando devido à agitação promovida pelo equipamento RVA. O aumento da viscosidade reflete uma preponderância do inchamento sobre o rompimento, até chegar a viscosidade máxima que é caracterizada pelo equilíbrio entre o aumento da viscosidade devido ao inchamento e o seu decréscimo causado pela fragmentação. Conforme mostra o amilograma (Figura 30), a viscosidade das três matérias-primas aumenta rapidamente a partir de 6min até a viscosidade máxima ser atingida.

Após atingir a viscosidade máxima, o rompimento do grânulo prevalece e a viscosidade decresce. Essa queda pode ser abrupta ou não, dependendo da resistência dos grânulos inchados a agitação mecânica a 95°C promovida pelo equipamento (ASCHERI; CARVALHO, 2008). De acordo com a Figura 30, a partir da viscosidade máxima a 95°C (VMáx), a viscosidade das três matérias-primas permanece quase constante até 11min aproximadamente, evidenciando a resistência do grânulo de amido a agitação. Nesse momento a viscosidade começa a aumentar até o final da análise (20min), obtendo a viscosidade final (VF). Esse aumento ocorreu durante o resfriamento da pasta provocado pela retrogradação do amido.

O ciclo de resfriamento, etapa final da análise, normalmente mostra a tendência à retrogradação do amido, que é o efeito da recristalização das moléculas de amilose e amilopectina, decorrente do agrupamento das partes lineares das moléculas de amido, formando pontes de hidrogênio entre essas moléculas adjacentes, e conseqüentemente promove um aumento da viscosidade de pasta (ASCHERI; CARVALHO, 2008; CARVALHO et al., 2002; LINEBACK, 1984).

Conforme o exposto pode-se dizer que a farinha de sorgo tratada enzimaticamente comportou-se similarmente com a farinha sem tratamento (Figura 30). Os valores de VI25 das matérias-primas foram 28, 23 e 10cP (Tabela 18) para as farinhas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial e fitase Embrapa, e para farinha sem tratamento enzimático (controle), respectivamente. Portanto o processamento da farinha com as fitases e posterior secagem não promoveu o pré-cozimento do amido. Os valores de VMáx das matérias-primas foram 468, 441 e 419cP (Tabela 18) para as farinhas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial e fitase Embrapa, e para farinha sem tratamento enzimático (controle), respectivamente.

Os valores de VF das matérias-primas foram 1544, 1374 e 1534cP (Tabela 18) para as farinhas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial e fitase Embrapa, e para farinha sem tratamento enzimático (controle), respectivamente. Observou que os valores encontrados para as farinhas com tratamento da fitase comercial e sem tratamento enzimático foram similares, porém diferiram da farinha com tratamento pela fitase Embrapa. Provavelmente ocorreu alguma interferência na formação das pontes de hidrogênio entre moléculas de amido diminuindo a retrogradação, comparada com as outras duas farinhas.

Na Figura 31, observam-se as curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (bloco 1) e fitase

Embrapa (bloco 2), e da farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático – controle (bloco 3) referente ao ponto central em função do tempo e temperatura.

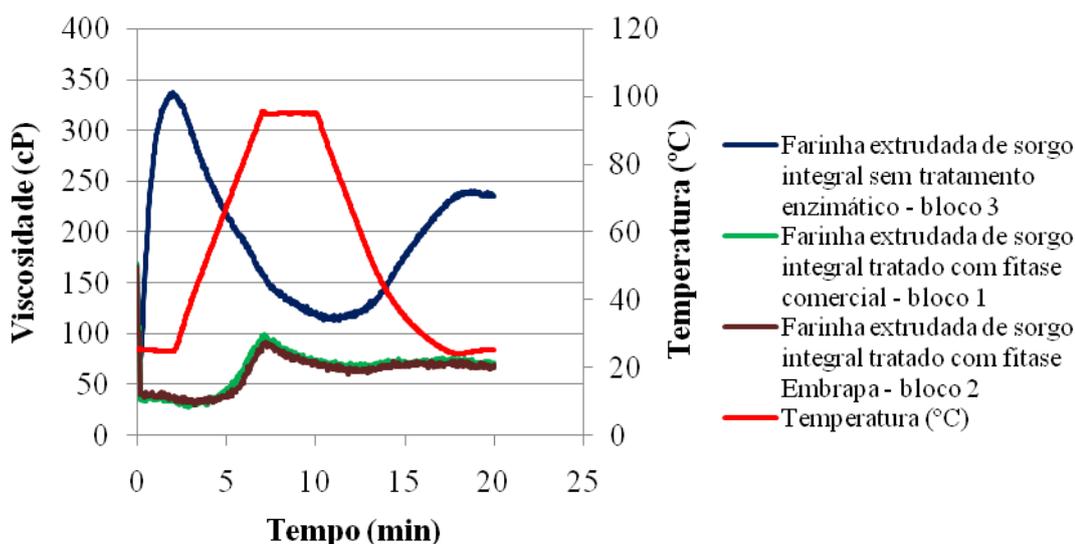


Figura 31. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas dos blocos 1, 2 e 3 referentes as médias dos tratamentos dos respectivos pontos centrais (140°C, 16% umidade).

A VI25 depende principalmente do grau de modificação dos grânulos de amido e da extensão de sua quebra molecular durante o processo de extrusão. De acordo com a Figura 31, observou-se que para as farinhas extrudadas de sorgo integral com tratamento enzimático usando fitase comercial e fitase Embrapa, a VI25 foi similar, mas ambos com valores bem inferiores ao da farinha extrudada de sorgo sem tratamento enzimático (controle). Provavelmente esses baixos valores, referentes as farinhas extrudadas com tratamento enzimático, foram ocasionados pelo baixo cisalhamento do amido ou pela sua dextrinização, conforme mencionado por Ascheri e Carvalho (2008), cuja viscosidade registrada a frio aumenta pelo efeito do cisalhamento sobre o amido diminuindo, eventualmente, pela excessiva quebra molecular do amido conforme aumenta o grau de cozimento.

Verificou que a VMáx das farinhas extrudadas de sorgo integral com tratamento enzimático usando fitase comercial e fitase Embrapa, foi similar, porém baixa. Portanto, confirmou-se que a extrusão promoveu a ruptura do grânulo e dextrinização nessas farinhas tratadas enzimaticamente. O perfil de viscosidade dessas farinhas extrudadas é totalmente diferente comparado à farinha extrudada sem tratamento enzimático utilizando as mesmas condições de extrusão (140°C e 16% de umidade). Conforme discutido anteriormente (Figura 30) os perfis de viscosidade de pasta das matérias-primas usadas no processo de extrusão termoplástica foram bem parecidos e provavelmente o processamento da farinha com as fitases e posterior secagem pode não ter promovido a hidrólise do amido. Porém, o processamento da farinha com as fitases e posterior secagem influenciou no processo de extrusão facilitando a ruptura do grânulo e dextrinização do amido, comparado com a farinha de sorgo que não sofreu tratamento enzimático. O tratamento enzimático, assim como a secagem e o pH mais baixo devido ao tampão adicionado, provavelmente fragilizaram a estrutura celular do sorgo deixando o amido mais vulnerável ao processamento por extrusão.

E a VF seguiu o mesmo padrão que as anteriores, sendo parecido entre as farinhas extrudadas de sorgo integral com tratamento enzimático e bem inferior à farinha extrudada de sorgo sem tratamento enzimático.

Na Tabela 19 encontra-se a média dos resultados de VI25, VMáx e VF do ponto

central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) conforme representado na Figura 31. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa das viscosidades de pasta (VI25, VMáx e VF) nas farinhas extrudadas de sorgo tratada enzimaticamente, mas houve em relação ao controle (sem tratamento enzimático).

Tabela 19. Média dos resultados de Viscosidade de Pasta Inicial a 25°C (VI25), Viscosidade de Pasta Máxima a 95°C (VMáx) e Viscosidade de Pasta Final (VF) do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático).

| Amostra* | VI25** (cP) | VMáx** (cP) | VF** (cP) |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| B1PC | 47 ^a | 104 ^a | 72 ^a |
| B2PC | 46 ^a | 95 ^a | 67 ^a |
| B3PC (controle) | 340 ^b | 219 ^b | 236 ^b |

*B1 lê-se Bloco 1 - farinha extrudada de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial; B2 lê-se Bloco 2 - farinha extrudada de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase Embrapa; B3 lê-se Bloco 3 - farinha extrudada de sorgo integral sem tratamento enzimático; Tratamentos: B1PC, B2PC e B3PC são pontos centrais (140°C, 16% umidade). **Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ($p \leq 0,05$); Média de 4 repetições.

A média dos resultados de VI25 do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) foi de 47, 46 e 340 cP, respectivamente (Tabela 19). Valores superiores, comparados com suas respectivas matérias-primas (Tabela 18), o que já era esperado devido ao processamento por extrusão.

A VI25 é importante para produtos instantâneos, como exemplo o produto comercial do tipo farinha láctea que serve para o preparo de vitamina e mingau. Carvalho et al. (2002) e Torres et al. (2005) mostram a capacidade das farinhas extrudadas absorverem água à temperatura ambiente e formarem pasta, gel ou líquido viscoso, de acordo com as condições de processo que o material foi extrudado.

Em farinhas cruas a VI25 é muito baixa, como as farinhas de sorgo integral mostradas na Figura 30, logo não podem ser utilizadas para determinados produtos instantâneos que necessitam de formar pasta. Já a farinha de sorgo integral extrudada sem tratamento enzimático pode ser utilizada para este fim devido sua VI25 de 340cP (Tabela 19 e Figura 31), mas as farinhas com o tratamento enzimático não, devido sua baixa viscosidade.

A média dos resultados de VMáx do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático), foi de 104, 95 e 219 cP, respectivamente (Tabela 19). Valores inferiores, comparados com suas respectivas matérias-primas (Tabela 18), o que já era esperado devido ao processamento por extrusão. O amido cru presente na matéria-prima se modifica devido ao aquecimento a 95°C em excesso de água resultando alta viscosidade. Já na farinha extrudada, devido ao amido estar pré-cozido ocorre uma perda da sua capacidade de inchar em água quente, acarretando em uma VMáx menor comparado a matéria-prima.

A VMáx é importante ser determinada, pois a farinha que apresentar alto valor pode ser utilizada no preparo de produtos como sopas e tortas, em que é necessário certa viscosidade em temperaturas altas (TORRES et al., 2005).

A VMáx se caracteriza pelas transformações que ocorrem na estrutura granular do amido submetido ao processo de aquecimento e excesso de água, como resultado da

desorganização molecular, que leva a um entumescimento total e absorção máxima de água pelos grânulos de amido (ASCHERI et al., 2006a; SILVA, 2010). Valores elevados geralmente são verificados quando o processamento por extrusão aplicado é menos severo, com isso os grânulos de amido que ficaram intactos são cozidos no ciclo de aquecimento na análise de viscosidade de pasta (SILVA, 2010; TORRES et al., 2005). Segundo Mahasukhonthachat et al. (2010), em variáveis do processo de extrusão que favorecem a ruptura do amido se espera uma redução das VM_{áx} e VF por causa da reduzida disponibilidade dos grânulos de amido nativos para cozimento no ciclo de aquecimento.

A média dos resultados de VF do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral, após tratamento enzimático, usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) foi de 72, 67 e 236cP, respectivamente (Tabela 19). Valores inferiores quando comparados com suas respectivas matérias-primas (Tabela 18). Durante o ciclo de resfriamento da análise das matérias-primas, ocorreu a retrogradação do amido pré-cozido, conforme discutido anteriormente em relação à VM_{áx}, gerando maiores valores de VF comparados às farinhas extrudadas.

A VF é importante ser avaliada, principalmente em produtos como pudins para sobremesa e recheios de torta, onde se deseja que estes amidos possuam alta viscosidade no ciclo de resfriamento e que sejam estáveis ao armazenamento, principalmente contra a sinerese, quando conservados sob refrigeração (SREBERNICH, 1989).

Segundo Silva (2010) é importante que a VF, no ciclo de resfriamento, não apresente valores muito elevados para o preparo de alguns produtos, como exemplo sopas, pois nesse produto deve apresentar boa característica de cremosidade, homogeneidade e textura, após o seu preparo. Em farinhas cruas, a viscosidade final após aquecimento e resfriamento pode ter valores muito elevados como mostra a Figura 30, com valores em cerca de 1500cP para as farinhas de sorgo integral, comportamento diferente para a farinha extrudada sem tratamento enzimático com VF de 236cP (Tabela 19). Porém, as farinhas extrudadas usando as farinhas de sorgo tratadas enzimaticamente obtiveram valores baixos, Tabela 19, para elaboração de sopa. Isso não inviabiliza seu uso, se na formulação for adicionado amido cru.

Pelembé et al. (2002) desenvolveu um mingau instantâneo de sorgo e feijão-caupi rico em proteína por processo de extrusão, voltado para os países da região sul da África e concluiu que, o mingau é comparável em composição e propriedades funcionais, com um produto comercial, mingau à base de milho e de soja. No entanto, indicou o produto desenvolvido para o consumidor infantil devido a seu alto valor nutritivo e viscosidade reduzida, pois para os adultos teria um impacto negativo pela presença do feijão-caupi, além de prejudicar seu manuseio, pois é comido utilizando as mãos e, por isso precisa de maior consistência.

Observou-se que as viscosidades de pasta das farinhas de sorgo integral extrudadas (Tabela 18) ficaram baixas. Porém, cabe ressaltar, que essas análises foram realizadas de uma fração da farinha que ficou retida entre as peneiras de 212 e 106 μ m (descrito na metodologia), pois de acordo com Becker et al. (2001) a diferença no tamanho de partículas entre as amostras pode ocasionar má interpretação dos resultados. Considerando que a farinha foi integral, observou-se visualmente que essa fração retinha uma quantidade de casca superior quando comparada com a fração de granulometria menor retida no fundo. Provavelmente, a fração utilizada para análise tinha menor concentração de amido o que resultaria em uma viscosidade de pasta mais baixa, mas é necessário peneirar para não inviabilizar a comparação entre os tratamentos.

Conforme Tabela 20, os resultados da análise de variância (ANOVA) e do coeficiente de regressão mostraram que apenas a variável umidade influenciou significativamente a VI₂₅ referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1). Houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p < 0,05$).

Como esse modelo se ajustou aos outros experimentos, então foi utilizado. Mas só 64% da variação total foi explicada pelo modelo, o que é considerado baixo. Resultado similar foi observado por Silva (2010) na VI25 em farinha extrudada de milho e feijão, onde 77% da variação total foi explicada pelo modelo e houve falta de ajuste.

Tabela 20. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta inicial a 25°C (VI25) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|--------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 46,50 | - | 0,00129** |
| X ₁ | 2,98 | 1,15 | 0,36146 ^{n.s.} |
| X ₁ ² | -3,88 | 1,56 | 0,30044 ^{n.s.} |
| X ₂ | 16,41 | 34,93 | 0,00967** |
| X ₂ ² | 16,63 | 28,68 | 0,01274* |
| X ₁ .X ₂ | 5,50 | 1,96 | 0,25580 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 12,56 | 0,03323* |

R²: 0,64002

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase comercial (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 5% de probabilidade; ** significativo a 1% de probabilidade.

A diminuição da umidade e o aumento das variáveis temperatura e velocidade de parafuso provocam maior degradação no amido. Dependendo das faixas de trabalho destas variáveis, estudadas em conjunto, podem causar efeitos diferentes na VI25, como observado por diferentes autores. Com o aumento da severidade de um tratamento pode aumentar a VI25, devido à degradação do amido, até o momento que a severidade do tratamento provoca excessiva quebra do amido levando a diminuição dos valores de VI25. Conforme observado por Torres et al. (2005) em farinha extrudada de banana verde, a temperatura e umidade influenciaram significativamente a VI25. Observaram que com o aumento da umidade e da temperatura até 150°C a VI25 aumentou, porém após 150°C a VI25 começou a diminuir.

Srebernich (1989) em farinha extrudada de amido de sorgo verificou os menores valores de VI25 em condições de baixa umidade e alta temperatura, e justificou que esse tratamento severo promoveu maior dextrinização do amido devido ao alto cisalhamento. Já os maiores valores de VI25 foi observado nos produtos extrudados em condições de alta umidade e alta temperatura, pois com alta umidade diminuiu a dextrinização do amido devido ao efeito lubrificante da água.

Mahasukhonthachat et al. (2010) em farinha extrudada de sorgo verificaram valores de VI25 entre 23 e 61cP e observaram um efeito negativo para a umidade, mas um efeito positivo para velocidade de parafuso. Logo provocou maior cozimento do amido e consequentemente maiores valores para VI25. Resultados foram equiparados com os encontrados nas farinhas extrudadas de sorgo tratados enzimaticamente (Tabela 18).

Ascheri et al. (2006b) em farinha extrudada de misturas de arroz e bagaço de jabuticaba verificaram para VI25 um efeito negativo para a temperatura e porcentagem de fibra alimentar adicionada, e um efeito positivo para velocidade de parafuso com valores de VI25 entre 219 e 665cP. Silva e Ascheri (2009) em farinha extrudada de quirera de arroz verificaram valores próximos de VI25 entre 402 e 596cP. Porém esses resultados são elevados comparados com os encontrados nas farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente, excetuando as farinhas extrudadas controle (sem tratamento enzimático) (Tabela 18).

Clerici e El-Dash (2008) em farinha extrudada de arroz verificaram que a umidade não apresentou efeito significativo sobre a VI25, mas a temperatura sim, com efeito positivo. Explicaram que quanto mais cozido estiver o amido, maior será a VI25, por outro lado, quando ocorrer também a dextrinização, a viscosidade irá diminuir, porque a capacidade de retenção de água tem uma relação inversa com o tamanho das moléculas de amilose e amilopectina.

Conforme Tabela 21, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que nenhuma variável (temperatura e umidade) influenciou significativamente a VI25 referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2). O intercepto foi significativo ($p < 0,01$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$). Mesmo observado por Souza e Leonel (2010) em farinha extrudada de mistura de fécula de mandioca e polpa cítrica, cuja temperatura e umidade não influenciaram a VI25.

Tabela 21. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta inicial a 25°C (VI25) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2).

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|-----------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 46,25 | - | 0,00303* |
| X_1 | 3,75 | 1,03 | 0,38390 ^{n.s.} |
| X_1^2 | -4,38 | 1,12 | 0,36672 ^{n.s.} |
| X_2 | -5,05 | 1,87 | 0,26446 ^{n.s.} |
| X_2^2 | -5,13 | 1,54 | 0,30238 ^{n.s.} |
| $X_1 \cdot X_2$ | -5,25 | 1,01 | 0,38849 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 2,41 | 0,24489 ^{n.s.} |

R²: 0,37582

X_1 : Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X_2 : Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase Embrapa (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 1% de probabilidade.

Conforme Tabela 22, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que nenhuma variável (temperatura e umidade) influenciou significativamente a VMáx referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1). O intercepto foi significativo ($p < 0,01$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$).

Torres et al. (2005) em farinha extrudada de banana verde observaram que em altas umidades e baixas temperaturas, indicativas de tratamento térmico menos severo, forneceram as maiores VMáx por causa da menor degradação do amido provocada nessas condições de processo. Assim como, Silva (2010) em farinha extrudada de milho e feijão observou valores de VMáx entre 38 e 298cP, cujo aumento da umidade e da proporção de feijão promoveram aumento da VMáx, mas não houve efeito significativo da velocidade de parafuso.

Mahasukhonthachat et al. (2010) em farinha extrudada de sorgo verificaram que o aumento na umidade de extrusão aumentou a VMáx e a VF, mas baixou a viscosidade inicial. No entanto, o aumento da velocidade de parafuso promoveu maior cozimento de amido, levando significativamente menor VF e maior VI25.

Srebernich (1989) em farinha extrudada de amido de sorgo não verificou efeito significativo da umidade e velocidade de parafuso sobre a VMáx. Porém observou efeito

negativo significativo da temperatura sobre a VM_{áx}, e justificou que o decréscimo da VM_{áx} com o aumento da temperatura era causado pela maior degradação do grânulo de amido.

Tabela 22. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta máxima a 95°C (VM_{áx}) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|--------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 103,50 | - | 0,00277* |
| X ₁ | -5,04 | 0,40 | 0,57408 ^{n.s.} |
| X ₁ ² | 0,31 | 0,00 | 0,97435 ^{n.s.} |
| X ₂ | 11,20 | 1,96 | 0,25621 ^{n.s.} |
| X ₂ ² | -22,94 | 6,56 | 0,08307 ^{n.s.} |
| X ₁ .X ₂ | 0,50 | 0,00 | 0,96756 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 0,38 | 0,77471 ^{n.s.} |
| R²: 0,69002 | | | |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase comercial (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 1% de probabilidade.

Conforme Tabela 23, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que nenhuma das variáveis independentes estudadas (temperatura e umidade) influenciou significativamente a VM_{áx} referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2). O intercepto foi significativo (p<0,001) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado (p>0,05). O mesmo observado para o bloco 1.

Tabela 23. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta máxima a 95°C (VM_{áx}) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fator | Coefficiente de Regressão | Teste F | P |
|--------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 95,25 | - | 0,00022* |
| X ₁ | 3,48 | 1,24 | 0,34670 ^{n.s.} |
| X ₁ ² | -4,44 | 1,61 | 0,29393 ^{n.s.} |
| X ₂ | -0,04 | 0,00 | 0,99113 ^{n.s.} |
| X ₂ ² | -2,19 | 0,39 | 0,57593 ^{n.s.} |
| X ₁ .X ₂ | -6,00 | 1,84 | 0,26798 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 4,02 | 0,14141 ^{n.s.} |
| R²: 0,24287 | | | |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase Embrapa (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 0,1% de probabilidade.

Conforme Tabela 24, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que apenas a variável umidade influenciou significativamente, com efeito linear, a VF referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1). O valor do coeficiente de determinação da regressão foi 0,737, explicando 74% da variável resposta, atribuindo 26% ao erro experimental que é considerado alto. Porém, não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado (p>0,05). Clerici e El-Dash (2008) em farinha extrudada de arroz verificaram que a

temperatura e umidade apresentaram efeito significativo sobre a VF, mas o coeficiente de determinação da regressão foi 0,546, valor considerado baixo conforme encontrado neste trabalho. Assim como Souza e Leonel (2010) em farinha extrudada de mistura de fécula de mandioca e polpa cítrica verificaram efeito significativo da umidade sobre a VF, mas com o coeficiente de determinação da regressão de 0,416.

Tabela 24. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta final (VF) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂).

| Fator | Coeficiente de Regressão | Teste F | P |
|--------------------------------|--------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 71,75 | - | 0,00105** |
| X ₁ | -1,01 | 0,06 | 0,81753 ^{n.s.} |
| X ₁ ² | -1,38 | 0,09 | 0,77825 ^{n.s.} |
| X ₂ | 16,47 | 17,01 | 0,02584* |
| X ₂ ² | -6,88 | 2,37 | 0,22124 ^{n.s.} |
| X ₁ .X ₂ | 2,50 | 0,20 | 0,68798 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 1,34 | 0,40769 ^{n.s.} |
| R²: 0,73669 | | | |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase comercial (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 5% de probabilidade; ** significativo a 1% de probabilidade.

Assim como na VMáx, processos menos severos, geralmente, forneceram maiores valores de VF por causa da menor degradação do amido provocada nessas condições de processo. Al-Rabadi et al. (2011) observou que VF aumentou com a diminuição da temperatura em farinha extrudada de sorgo, relataram que em temperaturas baixas a extrusão promoveu menor degradação do amido.

Srebernich (1989) em farinha extrudada de amido de sorgo observou os menores valores de VF em condições de alta temperatura e alta velocidade do parafuso, e justificou que nessas condições houve uma acentuada quebra dos grânulos de amido com rompimento de suas estruturas e redução do tamanho de suas moléculas a uma dimensão tal que causaram a perda da retrogradação das mesmas. Verificou que a umidade não influenciou significativamente a VF.

Silva (2010) em farinha extrudada de milho e feijão observou valores de VF entre 120 e 588cP, cujo aumento da umidade e da proporção de feijão promoveram aumento da VF, mas não houve efeito significativo da velocidade de parafuso.

Conforme Tabela 25, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que nenhuma variável (temperatura e umidade) influenciou significativamente a VF referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2). O intercepto foi significativo (p<0,001) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado (p>0,05). Lustosa e Leonel (2010) em farinha extrudada de mandioca e caseína também não verificaram efeito significativo da temperatura e umidade sobre a VF.

Tabela 25. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada a viscosidade de pasta final (VF) das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2), em função da temperatura (X₁) e umidade (X₂)

| Fator | Coeficiente de Regressão | Teste F | P |
|--------------------------------|--------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 66,75 | - | 0,00081* |
| X ₁ | 4,40 | 1,68 | 0,28607 ^{n.s.} |
| X ₁ ² | -4,75 | 1,57 | 0,29956 ^{n.s.} |
| X ₂ | -2,23 | 0,43 | 0,55788 ^{n.s.} |
| X ₂ ² | -2,25 | 0,35 | 0,59512 ^{n.s.} |
| X ₁ .X ₂ | -6,50 | 1,83 | 0,26884 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 3,03 | 0,19334 ^{n.s.} |
| R²: 0,31755 | | | |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase Embrapa (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 0,1% de probabilidade.

2.4.5 Teor de Ácido Fítico das Farinhas de Sorgo Integral

Os resultados quanto ao teor de ácido fóico das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas encontram-se dispostos na Tabela 26. Esses dados foram utilizados para a análise variância (ANOVA).

Tabela 26. Teor de ácido fóico das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas.

| Tratamentos | X ₁ | X ₂ | B1 (enzima comercial)* | B2 (enzima Embrapa)** | B3 (controle - sem enzima)*** |
|-------------|----------------|----------------|------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| | | | Ácido fóico (%bs)**** | Ácido fóico (%bs) | Ácido fóico (%bs) |
| T1 | 160 | 14 | 0,27 | 0,32 | - |
| T2 | 160 | 18 | 0,28 | 0,30 | - |
| T3 | 120 | 14 | 0,27 | 0,32 | - |
| T4 | 120 | 18 | 0,28 | 0,32 | - |
| T5 | 111,72 | 16 | 0,29 | 0,28 | - |
| T6 | 168,28 | 16 | 0,28 | 0,33 | - |
| T7 | 140 | 13,17 | 0,28 | 0,30 | - |
| T8 | 140 | 18,83 | 0,27 | 0,31 | - |
| T9 | 140 | 16 | 0,28 | 0,28 | 1,16 |
| T10 | 140 | 16 | 0,28 | 0,28 | 1,16 |
| T11 | 140 | 16 | 0,29 | 0,31 | 1,10 |
| T12 | 140 | 16 | 0,29 | 0,32 | 1,18 |
| MP**** | - | - | 0,27 | 0,30 | 1,12 |

X₁: Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X₂: Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada ou não enzimaticamente (%); *Bloco 1 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial; **Bloco 2 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa; ***Bloco 3 - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático; ****Teor de ácido fóico expresso em porcentagem na base seca; *****Matérias-primas usadas no processo de extrusão termoplástica referentes aos blocos 1, 2 e 3.

Como mostra a Tabela 26, observou-se que as fitases comercial e Embrapa foram eficientes para reduzir o teor de ácido fóico presente na farinha de sorgo com 1,12%

reduzindo para aproximadamente 0,27 e 0,30%, respectivamente. Porém, o processo de extrusão termoplástica não foi eficiente para reduzir o teor de ácido fítico na farinha de sorgo sem tratamento enzimático (controle), nem combinado com o tratamento enzimático referente aos blocos 1 e 2, nas condições estudadas neste trabalho com o sistema de extrusão utilizado.

Conforme discutido no Capítulo I, a enzima Embrapa foi mais eficiente que a enzima comercial. Porém, como mostra a Tabela 26, a redução do teor de ácido fítico na farinha de sorgo foi semelhante para as duas enzimas. Isso ocorreu porque se utilizou uma concentração da fitase Embrapa menor comparada a da comercial, conforme explicado na metodologia.

A média dos resultados do teor de ácido fítico do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral, após tratamento enzimático, usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) foi de 0,29, 0,30 e 1,15, respectivamente (Tabela 27). Os resultados mostraram que não houve diferença significativa dos teores de ácido fítico nas farinhas extrudadas de sorgo tratadas enzimaticamente, mas houve diferença significativa em relação ao controle (sem tratamento enzimático). A redução do teor de ácido fítico referente aos blocos 1 e 2 foi promovida, exclusivamente, pela ação da fitase e não pela extrusão, conforme discutido anteriormente. Como também observado na farinha extrudada controle, cujo teor de ácido fítico permaneceu igual ao da matéria-prima (Tabelas 26 e 27).

Tabela 27. Média dos resultados do teor de ácido fítico do ponto central das farinhas extrudadas de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático).

| Amostra* | Ácido fítico (%bs)** |
|-----------------|----------------------|
| B1PC | 0,29 ^a |
| B2PC | 0,30 ^a |
| B3PC (controle) | 1,15 ^b |

*B1 lê-se Bloco 1 - farinha extrudada de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase comercial; B2 lê-se Bloco 2 - farinha extrudada de sorgo integral após tratamento enzimático usando fitase Embrapa; B3 lê-se Bloco 3 - farinha extrudada de sorgo integral sem tratamento enzimático; Tratamentos: B1PC, B2PC e B3PC são pontos centrais (140°C, 16% umidade). **Teor de ácido fítico expresso em porcentagem na base seca; Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si ($p \leq 0,05$); Média de 4 repetições.

Gualberto et al. (1997) não observou efeito significativo da extrusão na redução do teor de ácido fítico em farelos de aveia, arroz e trigo, apesar de ter utilizado uma maior velocidade do parafuso comparada com a utilizada normalmente na literatura. A alta velocidade de parafuso serve para aumentar a severidade do tratamento. Assim como Poltronieri et al. (2000) em farinha extrudada de grão de bico não verificaram efeito significativo na redução do teor de ácido fítico. Resultados semelhantes ao encontrado nesse trabalho.

Segundo Ummadi et al. (1995) o processamento de legumes por extrusão promoveu um aumento das formas de inositol fosfatos (inositol tri-, tetra- e penta-fosfatos) para 51-71% do ácido fítico total quando comparado com 21-33% nos legumes crus devido a degradação do ácido fítico.

Conforme Tabela 28, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que nenhuma variável (temperatura e umidade) influenciou significativamente o teor de ácido fítico referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1). O intercepto foi significativo ($p < 0,0001$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$). Portanto, o processo de extrusão não reduziu o teor de ácido fítico nas diferentes condições de processamento.

Tabela 28. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao teor de ácido fítico das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase comercial (bloco 1), em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2).

| Fator | Coeficiente de Regressão | Teste F | P |
|-------------------------------|--------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 0,285 | - | 0,000002* |
| X_1 | -0,002 | 0,750 | 0,45019 ^{n.s.} |
| X_1^2 | -0,001 | 0,300 | 0,62200 ^{n.s.} |
| X_2 | 0,001 | 0,129 | 0,74356 ^{n.s.} |
| X_2^2 | -0,006 | 7,500 | 0,07142 ^{n.s.} |
| $X_1.X_2$ | 0,000 | 0,000 | 1,00000 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 2,207 | 0,26617 ^{n.s.} |
| R²: 0,46549 | | | |

X_1 : Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X_2 : Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase comercial (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 0,01% de probabilidade.

Conforme Tabela 29, os resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficiente de regressão mostraram que nenhuma variável (temperatura e umidade) influenciou significativamente o teor de ácido fítico referente às farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco 2). O intercepto foi significativo ($p < 0,0001$) evidenciando a escolha adequada do ponto central e não houve falta de ajuste dos dados experimentais ao modelo quadrático aplicado ($p > 0,05$). O mesmo observado para o bloco 1.

Tabela 29. Teste F da análise de variância, coeficiente de regressão e respectivas probabilidades (P) do modelo de regressão quadrática aplicada ao teor de ácido fítico das farinhas extrudadas de sorgo tratado enzimaticamente com fitase Embrapa (bloco2), em função da temperatura (X_1) e umidade (X_2)

| Fator | Coeficiente de Regressão | Teste F | P |
|-------------------------------|--------------------------|---------|-------------------------|
| Intercepto | 0,297 | - | 0,00009* |
| X_1 | 0,006 | 0,756 | 0,44847 ^{n.s.} |
| X_1^2 | 0,006 | 0,588 | 0,49893 ^{n.s.} |
| X_2 | -0,001 | 0,010 | 0,92631 ^{n.s.} |
| X_2^2 | 0,006 | 0,588 | 0,49893 ^{n.s.} |
| $X_1.X_2$ | -0,005 | 0,235 | 0,66084 ^{n.s.} |
| Falta de ajuste | - | 1,078 | 0,47615 ^{n.s.} |
| R²: 0,24126 | | | |

X_1 : Temperatura na zona 3 do extrusor (°C); X_2 : Umidade de processamento da farinha de sorgo tratada com fitase Embrapa (%); ^{n.s.} não significativo; * significativo a 0,01% de probabilidade.

2.5 CONCLUSÃO

O processo de extrusão termoplástica promoveu mudanças, consideradas favoráveis, nas farinhas como o aumento do ISA e do IAA.

As farinhas de sorgo tratadas enzimaticamente e processadas por extrusão produziram farinha de baixa viscosidade em água.

O tratamento enzimático tanto com a fitase Embrapa quanto a comercial reduziu o teor de ácido fítico da farinha de sorgo integral. Porém, o processo de extrusão, nas condições que foram realizadas o experimento, não foi suficiente para diminuir o teor de ácido fítico no sorgo.

As farinhas de sorgo integral extrudadas utilizando as farinhas tratadas com enzimas fitase poderão ser utilizadas como ingredientes na produção de produtos panificáveis, como biscoitos, na formulação de multimisturas, na produção de mingau de baixa viscosidade para o público infantil. Para produção de sopas, estas farinhas deverão ser ajustadas com uma pequena porção de amido cru, pois a extrusão promoveu considerável ruptura do grânulo de amido nessas farinhas tratadas enzimaticamente.

O processo de extrusão produziu extrudados expandidos diretos, os quais podem ser utilizados como alternativa ao consumo de farinha extrudada.

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MATÉRIA-PRIMA CRUA, HIDROLISADA ENZIMATICAMENTE E DAS FARINHAS EXTRUDADAS DE SORGO

RESUMO

O sorgo ocupa a quarta posição na produção de cereais no Brasil. Este cereal pode ser uma alternativa frente a outros cereais e sua utilização pode ajudar a resolver questões de segurança alimentar, pois é uma cultura resistente à seca que suporta facilmente duras condições de cultivo em regiões pobres como da Ásia e da África. O sorgo, à semelhança dos outros cereais, é predominantemente amiláceo e além de ser uma boa fonte de carboidratos, fibras e minerais possui potencial para substituir o trigo em alimentos destinados a celíacos, devido não possuir glúten. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do tratamento enzimático e do processo de extrusão termoplástica sobre a composição centesimal, de minerais e de aminoácidos da farinha de sorgo integral. Realizou-se uma caracterização da composição centesimal, minerais e perfil de aminoácidos na matéria-prima (sorgo), na farinha de sorgo após tratamento enzimático e em alguns tratamentos da farinha pré-cozida por extrusão. A composição centesimal e o teor de ácido fítico (% em base seca) do sorgo integral foi: proteínas 12,3; lipídeos 3,9; cinzas 1,8; carboidratos 82,0 e ácido fítico 1,03. Os teores de minerais, expressos em mg/100g em base seca, foram: sódio 2,06; potássio 382,28, magnésio 171,85; cálcio 14,05; manganês 2,02; ferro 4,16; zinco 2,8; cobre 0,17 e fósforo 400,71. E, os teores de aminoácidos, expressos em g/100g em base seca, foram: glicina+serina 0,98; histidina 0,25; arginina 0,38; treonina 0,41; tirosina 0,44; valina 0,54; lisina 0,57; isoleucina 0,45; leucina 1,61; fenilalanina 0,55 e triptofano 0,10. O tratamento enzimático e o processo de extrusão termoplástica não provocaram grandes variações na composição centesimal, minerais e aminoácidos da farinha de sorgo integral. As farinhas de sorgo integral extrudadas podem atender boa parte da IDR quanto aos minerais abordados neste estudo, com exceção do cálcio, para adultos e crianças entre 4 e 6 anos. O tratamento enzimático e o processo de extrusão termoplástica são boas alternativas para a produção de farinha de sorgo integral pré-cozida.

Palavras-chave: composição centesimal, minerais, aminoácidos, sorgo

ABSTRACT

The Sorghum ranks fourth in cereal production in Brazil. This cereal may be an alternative compared to other cereals and their use can help address issues of food security because it is a drought resistant crop that easily withstands harsh growing conditions in poor regions such as Asia and Africa. The sorghum, like other cereals, is predominantly amylaceous and besides being a good source of carbohydrates, fiber and minerals, the sorghum has potential to replace the wheat foods for celiacs, because it do not have gluten. This study aimed to evaluate the effect of enzyme treatment and the extrusion process on the composition, minerals and amino acids of the whole sorghum flour. It was analyzed chemical composition, minerals profile and amino acid profile in the raw material (sorghum), sorghum flour after the enzymatic treatment and in some treatments of the pre-cooked flour by extrusion. The chemical composition and phytic acid content (% dry basis) of whole sorghum was: protein 12.3, lipid 3.9, ash 1.8, carbohydrates 82.0 and phytic acid 1.03. The mineral contents, expressed in mg/100g in dry basis, were: sodium 2.06, potassium 382.28, magnesium 171.85, calcium 14.05, manganese 2.02, iron 4.16, zinc 2.8, copper 0.17 and phosphorus 400.71. And, the amino acid contents, expressed in g/100g in dry base, were: glycine + serine 0.98, histidine 0.25, arginine 0.38, threonine 0.41, tyrosine 0.44, valine 0.54, lysine 0.57, isoleucine 0.45, leucina1.61, phenylalanine 0.55 and tryptophan 0.10. The enzymatic treatment and thermoplastic extrusion process not caused wide variations in composition, minerals and amino acids of the whole sorghum flour. The whole sorghum extruded flour may meet much of the IDR for minerals discussed in this study, except for calcium for adults and children between 4 and 6 years. The enzyme treatment and thermoplastic extrusion process can be considered good alternatives for the production of pre-cooked whole sorghum flour.

Keywords: proximate composition, minerals, amino acids, sorghum

3.1 INTRODUÇÃO

O sorgo é o quarto cereal no ranking de produção brasileiro. É uma cultura pouco exigente, podendo ser cultivada em áreas onde as condições ambientais para a produção de outros grãos é desfavorável e antieconômica, o sorgo pode ser uma alternativa frente a outros cereais, levando-se em consideração o aumento da população mundial e o decrescente abastecimento de água.

Atualmente observa-se uma maior preocupação do mercado nacional e internacional com consumidores portadores de doenças que restringem dietas. Para celíacos é possível encontrar produtos sem glúten, geralmente produzidos com arroz. O sorgo é uma excelente alternativa para produção de produtos para portadores de doença celíaca, devido não possuir glúten.

Alguns alimentos como sorgo apresentam altas quantidades de fitato, que pode ser reduzido com o uso da enzima fitase, pois catalisa a hidrólise do ácido fítico à inositol e fosfatos. A extrusão termoplástica também é considerada um processo capaz de reduzir fatores antinutricionais, além de melhorar a digestibilidade e promover alterações nas propriedades físicas em alimentos extrudados.

Segundo Fellows (2006) as condições de alta temperatura por curto tempo na extrusão e o rápido resfriamento do produto quando emerge da matriz, causam perdas relativamente pequenas de vitaminas e aminoácidos essenciais.

3.1.1 Objetivos

- Avaliar o efeito do tratamento enzimático sobre a composição centesimal, minerais e aminoácidos da farinha de sorgo integral;
- Avaliar o efeito da extrusão termoplástica sobre a composição centesimal, minerais e aminoácidos da farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente e sem tratamento.

3.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.2.1 Composição Química do Sorgo

O sorgo é o quarto cereal no ranking de produção brasileiro (IBGE, 2010), sua produção vem aumentando consideravelmente chegando a 2,02 milhões de toneladas de sorgo na safra 2010/11. Por ser uma cultura pouco exigente, podendo ser cultivada em áreas onde as condições ambientais para a produção de outros grãos é desfavorável e antieconômica, o sorgo pode ser uma alternativa frente a outros cereais. Taylor et al. (2006) afirma que o sorgo é uma cultura importante frente ao aumento da população mundial e o decrescente abastecimento de água.

O sorgo é utilizado em uma grande variedade de alimentos, os quais são restritos aos países da África e Ásia (DICKO et al., 2006; TAYLOR et al., 2006). Nos EUA e no Japão a utilização de sorgo como alimento humano está aumentando devido à sua utilização em “snacks” e cookies (ROONEY; WANISKA, 2004).

Marina Torres da Embrapa Milho e Sorgo relatou que profissionais de quatro unidades da Embrapa e três universidades reuniram-se para a elaboração de um projeto de pesquisa com o objetivo de promover a utilização do sorgo na alimentação dos brasileiros. Como relatado no capítulo 2, o sorgo é bastante utilizado em países da África e Ásia na produção de farinha, pães, biscoitos e mesmo bebidas alcoólicas. Já no Brasil, tem como principal destino a silagem e a composição de rações para alimentação animal. A pesquisadora Valéria Queiroz, da área de Nutrição e Segurança Alimentar da Embrapa Milho e Sorgo, explicou que o cereal apresenta propriedades importantes para a saúde humana, tem custo de produção menor e é mais resistente à seca do que outras culturas. Por todas essas razões, há demandas para o desenvolvimento de produtos alimentícios à base de sorgo que possam ser consumidos pelos brasileiros (EMBRAPA, 2009).

O sorgo, a semelhança dos outros cereais, é predominantemente amiláceo e o seu conteúdo em proteína e comparável ao do milho e do trigo (FAO, 1995). O valor nutricional do sorgo varia entre as cultivares, porém, é semelhante ao do milho. O amido é o principal componente do grão e encontra-se no endosperma, seguido pelas proteínas, as quais se concentram, principalmente, no gérmen e no endosperma (CONCEIÇÃO et al., 2009). Nas Tabelas 30 e 31 têm-se a composição química e perfil de aminoácidos do sorgo de baixo e alto tanino.

O sorgo é uma excelente fonte de minerais e vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e niacina). Também é uma boa fonte de energia, principalmente sob a forma de carboidrato complexo (amidos) sendo geralmente digerido lentamente proporcionando saciedade por mais tempo. O sorgo contém mais gordura do que o trigo, arroz e mandioca e teor de proteína similar a outros grãos (INTSORMIL, 2010). Devido ao seu alto teor de amido, o sorgo é propício para a produção de farinhas pré-cozidas.

O sorgo é considerado uma boa fonte nutricional, pois pode fornecer cerca de 20 micronutrientes. No entanto, o fósforo ligado ao fitato em grãos de sorgo varia entre 0,17 – 0,38%, representando 80 – 87% do fósforo total deste cereal (DENDY, 1995), podendo interferir na absorção de cálcio e outros minerais. Outro fator não menos importante é o fato de o fósforo ligado ser pouco disponível para animais monogástricos e humanos devido à ausência de fitase no trato digestivo (RABOY et al., 1991). O fósforo do fitato não sendo absorvido no trato gastrointestinal é excretado e dessa forma passa a poluir o meio ambiente, principalmente em áreas de agropecuária intensiva, uma vez que esse fósforo se infiltra no solo sendo transportado para os lençóis de água e conseqüentemente para rios, mares e lagos,

causando eutrofização das águas (MALLIN, 2000). Uma alternativa para aumentar a disponibilidade do fósforo é o emprego de fitase exógena conforme discutido no Capítulo I.

Tabela 30. Composição química do sorgo de alto e baixo tanino (na matéria natural).

| Nutriente | Sorgo alto tanino | Sorgo baixo tanino |
|-------------------------------|-------------------|--------------------|
| Matéria seca (%) | 85,88 | 87,97 |
| Proteína bruta (%) | 8,94 | 9,23 |
| Gordura (%) | 2,35 | 3,00 |
| Amido (%) | 56,80 | 60,79 |
| Fibra bruta (%) | 2,78 | 2,30 |
| Matéria mineral (%) | 1,86 | 1,39 |
| Cálcio (%) | 0,03 | 0,03 |
| Fosforo (P) total (%) | 0,26 | 0,26 |
| P disponível ¹ (%) | 0,09 | 0,09 |
| Potássio (%) | 0,31 | 0,34 |
| Sódio (%) | 0,01 | 0,02 |
| Magnésio (%) | - | 0,11 |
| Manganês (mg/kg) | - | 10,9 |
| Ferro (mg/kg) | - | 59,7 |
| Cobre (mg/kg) | - | 7,6 |
| Zinco (mg/kg) | - | 18,6 |
| Selênio (mg/kg) | - | 0,25 |

¹Valores calculados ou estimados para aves e suínos.
Fonte: (ROSTAGNO et al., 2005)

Tabela 31. Perfil de aminoácidos no sorgo de alto e baixo tanino (na matéria natural).

| Nutriente | Sorgo alto tanino | Sorgo baixo tanino |
|-----------------------------|-------------------|--------------------|
| Proteína Bruta (%) | 8,94 | 9,23 |
| Lisina (%) | 0,20 | 0,20 |
| Metionina (%) | 0,15 | 0,15 |
| Metionina + Cisteína (%) | 0,32 | 0,32 |
| Triptofano (%) | 0,09 | 0,09 |
| Treonina (%) | 0,31 | 0,31 |
| Arginina (%) | 0,35 | 0,35 |
| Glicina + Serina (%) | 0,71 | 0,71 |
| Valina (%) | 0,47 | 0,47 |
| Isoleucina (%) | 0,37 | 0,37 |
| Leucina (%) | 1,20 | 1,20 |
| Histidina (%) | 0,21 | 0,21 |
| Fenilalanina (%) | 0,51 | 0,51 |
| Fenilalanina + Tirosina (%) | 0,96 | 0,96 |

Fonte: (ROSTAGNO et al., 2005)

A extrusão termoplástica é considerada um processo capaz de reduzir a concentração de fatores antinutricionais em produtos alimentares, e vem sendo aplicada largamente em grãos como uma boa alternativa para produção de novos alimentos. Alterações nas propriedades físicas e químicas em alimentos extrudados dependem das características do tratamento térmico, as quais são utilizadas como estratégia para melhorar a qualidade do produto (TH, 1990).

A hidrólise do ácido fítico (13-25%) é relatada em cozimento por extrusão por Le Francois (1988). Porém Poltronieri et al. (2000) em estudo para avaliar o efeito da extrusão na biodisponibilidade do ferro em grão de bico, verificou que o processo de extrusão não teve efeito redutor no teor de fitato e não alterou a biodisponibilidade do ferro. Gualberto et al. (1997) não observou efeito da extrusão no teor de ácido fítico, apesar de ter utilizado uma maior velocidade do parafuso de extrusão que a utilizada normalmente na literatura.

Segundo Fellows (2006) com relação ao valor nutricional, a perda de vitaminas nos extrudados varia de acordo com o tipo de matéria-prima, teor de umidade da mesma, temperatura e o tempo de processo. Geralmente as perdas são minimizadas na extrusão a frio. As condições de alta temperatura por curto tempo na extrusão e o rápido resfriamento do produto quando emerge da matriz, causam perdas relativamente pequenas de vitaminas e aminoácidos essenciais. Guerra de Modernell (1984) constatou que durante o processo de extrusão houve a diminuição do conteúdo de alguns aminoácidos essenciais e vitaminas na farinha de sorgo, enquanto o teor de proteínas não sofreu alteração.

Os níveis de minerais no sorgo pode ser influenciado conforme algumas variáveis como variedade, condições do solo, temperatura, chuvas e fertilizantes (WALL; BLESSIN, 1970). Segundo o Committee on Micronutrient Deficiencies (1998) ferro, zinco, iodo e vitamina A são micronutrientes limitados em países em desenvolvimento, e o sorgo apresenta-se como uma excelente fonte tanto de ferro quanto de zinco (INTSORMIL, 2010). O teor de gordura do sorgo (3%) é maior do que o de trigo e arroz, porém menor do que a de milho (3,5%). Este cereal também é uma boa fonte de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, piridoxina, etc), e de vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (DICKO et al., 2006).

Proteínas são polímeros cujas unidades fundamentais são os aminoácidos. Os vegetais produzem todos os aminoácidos necessários para a produção de suas proteínas, enquanto as células animais não sintetizam todos eles, e assim necessitam dos alimentos ingeridos para suprir as necessidades metabólicas. Frente a essa realidade os aminoácidos podem ser classificados em essenciais (não podem ser sintetizados pelos animais) e os não essenciais (podem ser sintetizados pelos animais). A FAO/WHO (1991) classifica os aminoácidos histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, triptofano e valina como essenciais. O teor de proteínas do sorgo é variável o que pode ser atribuído a fatores genéticos e ambientais, tamanho da semente e o nível de fertilização com nitrogênio (BURLESON et al., 1956; WAGGLE et al., 1967; AJAKAIYE, 1984). Ao comparar o teor de aminoácidos do milho e do sorgo, observa-se que o sorgo apresenta níveis similares ao do milho (ROSTAGNO et al., 2005).

Paes e Maga (2004) em estudo sobre o efeito da extrusão no perfil de aminoácidos essenciais verificaram que a extrusão promoveu redução no conteúdo dos aminoácidos essenciais isoleucina, leucina, lisina, treonina e valina das farinhas de milho, entretanto, os conteúdos de histidina, metionina, fenilalanina, e triptofano não diferiram para as amostras de farinhas e extrudados de mesma origem.

O sorgo é um cereal que além de ser uma boa fonte de carboidratos, fibras e minerais possui potencial para substituir o trigo em alimentos destinados a celíacos, devido não possuir glúten. A doença celíaca é uma enfermidade devido à intolerância alimentar associada a produtos derivados de grãos de trigo, centeio, cevada e aveia. Os sintomas mais comuns são diarreia e desnutrição, decorrentes da má absorção de nutrientes, devido à atrofia da mucosa intestinal. Como consequência o paciente celíaco perde peso e pode sofrer diversos sintomas associados com deficiência de vitaminas e minerais (FENACELBRA, 2011).

A ANVISA através da RDC nº 40/02 obriga todos os alimentos e bebidas embalados vendidos no país e que contenham glúten devem apresentar impressos nos rótulos a advertência "contém glúten" (BRASIL, 2002). A medida estabelecida visa padronizar a declaração da presença da proteína encontrada no trigo, cevada, malte, centeio, aveia e seus

derivados, já obrigatória pela Lei 8.543/92 (BRASIL, 1992). A Lei 10.674/03 decreta que todos os alimentos industrializados devem conter no rótulo, obrigatoriamente, as inscrições “contém glúten” ou “não contém glúten” (BRASIL, 2003).

Atualmente observa-se uma maior preocupação do mercado nacional e internacional com consumidores portadores de doenças que restringem dietas. É possível encontrar alimentos direcionados a determinados grupos e como citado anteriormente às embalagens devem apresentar advertências, apesar da disponibilidade e a variabilidade serem limitadas (LEE et al., 2007) nos supermercados e o preço ser mais alto. Para celíacos é possível encontrar produtos sem glúten, geralmente produzidos com arroz. O sorgo é uma excelente alternativa para produção de produtos para portadores de doença celíaca.

Ciacci et al. (2007) em estudo para avaliar a segurança, *in vitro* e *in vivo*, de produtos alimentares a base de sorgo concluíram que o sorgo não apresentaram toxicidade para pacientes celíacos. Schober et al. (2007) descreveram a produção otimizada de pão de sorgo sem glúten e verificaram os efeitos de diferentes modificações na qualidade do produto final, concluindo que a fermentação melhorou a estrutura final do produto, enquanto o pão não fermentado apresentava um buraco no miolo.

Rodrigues Ferreira et al. (2009) desenvolveram *cookies* de chocolate utilizando farinha de sorgo sem tanino e concluíram que a farinha de sorgo apresenta viabilidade para produção de biscoitos tipo cookies para celíacos. Borges et al. (2011) avaliaram dois cultivares de sorgo produzidos no Brasil para a produção de biscoito amanteigado e os resultados mostraram que a farinha de sorgo pode ser utilizada para a fabricação de biscoitos, independente da cultivar utilizada, pois apresentaram aceitação igual a de biscoitos elaborados com farinha de trigo.

Martinez e Pau (1992) em estudo para elaboração de um produto instantâneo de sorgo utilizando a extrusão, verificaram que os produtos extrudados não apresentaram alterações nos conteúdos protéicos, gorduras, fibras e cinzas. O teste de análise sensorial mostrou que o produto teve boa aceitação, porém menor que o produto comercial justificando que este dado foi atribuído ao fato do produto comercial ter mais saborizante que o produto testado.

Segundo Mesa-Stonestreet et al. (2010) o sorgo é seguro para os celíacos e pessoas com sensibilidade ao glúten, melhorando a digestibilidade da proteína, assim aumenta sua importância. Melhor digestibilidade protéica não só aumenta a utilização do sorgo em alimentos como também oferece uma fonte alternativa nutricional a pessoas com sensibilidade ao glúten, mas também ajuda a populações de países em desenvolvimento, já que o sorgo é uma dieta básica e serve para maximizar a ingestão de proteínas. E a extrusão da farinha de sorgo aumenta a sua digestibilidade. Além disso, segundo os mesmos autores, a utilização do sorgo ajuda a resolver questões de segurança alimentar, pois é uma cultura resistente à seca que suporta facilmente duras condições de cultivo em regiões pobres da Ásia e da África.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

As análises referentes a este capítulo foram realizadas na matéria-prima (sorgo), na farinha de sorgo após tratamento enzimático e em alguns tratamentos da farinha pré-cozida por extrusão. Todas as seguintes análises foram realizadas nos laboratórios da Embrapa Agroindústria de Alimentos: composição centesimal (laboratório de físico-química), minerais (laboratório de minerais) e perfil em aminoácidos (laboratório de cromatografia). Alguns dos tratamentos da farinha pré-cozida por extrusão e, suas respectivas matérias-primas, foram escolhidos para uma avaliação global do efeito deste tipo de processamento: o ponto central (temperatura do extrusor: 140°C; umidade de processamento: 16%) e os extremos quanto ao parâmetro umidade de processamento (temperatura do extrusor: 140°C e 140°C; umidade de processamento: $-\alpha = 13,17\%$ e $+\alpha = 18,83\%$) referentes ao delineamento experimental descrito no Capítulo II. Os tratamentos limites quanto a umidade de processamento foram escolhidos, pois este parâmetro exerce maior influência no cisalhamento do material processado possibilitando a avaliação global referida anteriormente.

3.3.1 Composição Centesimal

Realizou-se uma caracterização da composição centesimal das diferentes amostras citadas anteriormente quanto:

- a) Proteína - nitrogênio total (AOAC, 2010, método 2001.11 modificado) pelo método Kjeldahl, utilizando como catalizador uma mistura de Na_2SO_4 , CuSO_4 e Se, e como titulante H_2SO_4 , na concentração de 0,1N;
- b) Lipídeos - extrato etéreo (AOAC, 2010, método 945.38) utilizando éter de petróleo e extrator de Soxhlet;
- c) Umidade (AOAC, 2010, método 925.09);
- d) Cinzas ou resíduo mineral fixo (AOAC, 2010, método 923.03);
- e) Carboidratos: foi calculado pela diferença entre 100% e a soma das porcentagens dos demais constituintes (proteína, lipídios, umidade e cinzas).

3.3.2 Minerais

Realizaram-se análises de minerais nas diferentes amostras quanto aos teores de: sódio, potássio, magnésio, cálcio, manganês, ferro, zinco, cobre, fósforo e selênio, de acordo com metodologia descrita na AOAC (2005), através da digestão das amostras com ácido nítrico e ácido perclórico ($\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$) em bloco digestor (método 999.11, item 9.1.09). A quantificação dos minerais foi realizada em espectrofotômetro de emissão de plasma ICP *Spectroflama flame* (Alemanha), (método 990.08, item 9.2.39).

3.3.3 Perfil de Aminoácidos

Realizou-se uma caracterização do perfil de aminoácidos nas diferentes amostras quanto: asparagina, glutamina, serina, histidina, glicina, treonina, alanina, arginina, valina, isoleucina, leucina, lisina, prolina e triptofano.

A hidrólise das proteínas foi realizada segundo metodologia da AOAC (2005, método 982.30). Duas hidrólises distintas foram necessárias: hidrólise ácida (HCl 6M) para a determinação de 18 aminoácidos resistentes e hidrólise básica (NaOH 4,2M) para a quantificação do triptofano. As hidrólises foram conduzidas em ampolas de vidro seladas sob vácuo e mantidas à 110°C por 20h. A separação do triptofano foi feita em coluna C_{18} com detecção fluorimétrica. Os aminoácidos resistentes à hidrólise ácida foram derivatizados com 6-aminoquinolil-succimidil-carbamato (AQC), separados em fase reversa e detectados por

fluorescência em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), modelo Alliance, marca Waters (EUA), com detector de fluorescência modelo Alliance, marca Waters (EUA).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Composição Centesimal

Os resultados quanto a composição centesimal das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas (sorgo B1, sorgo B2 e sorgo MP, respectivamente) encontram-se na Tabela 32.

Tabela 32. Composição centesimal (% em base seca) do sorgo (matéria-prima), sorgo tratado com enzima comercial (matéria-prima do bloco 1), sorgo tratado com enzima Embrapa (matéria-prima do bloco 2) e amostras extrudadas de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima).

| Amostras ^{***} | Proteínas (%bs) [*] | Lipídeos (%bs) | Carboidratos (%bs) ^{**} | Cinzas (%bs) |
|-------------------------|------------------------------|----------------|----------------------------------|--------------|
| Sorgo (MP) | 12,3 | 3,9 | 82,0 | 1,8 |
| Sorgo B1 | 13,3 | 3,7 | 80,8 | 2,2 |
| Sorgo B2 | 11,4 | 3,9 | 82,3 | 2,5 |
| B1T7 | 12,2 | 2,2 | 83,1 | 2,4 |
| B1PC | 11,0 | 1,8 | 84,9 | 2,4 |
| B1T8 | 12,2 | 2,1 | 83,3 | 2,3 |
| B2T7 | 12,7 | 1,8 | 83,1 | 2,5 |
| B2PC | 11,5 | 2,0 | 84,0 | 2,5 |
| B2T8 | 12,7 | 1,6 | 83,2 | 2,6 |
| B3PC (Controle) | 10,9 | 2,2 | 85,0 | 1,9 |

^{*}Fator utilizado para conversão de nitrogênio total para proteína bruta: 6,25. ^{**}Calculado por diferença em base seca sem descontar fibra alimentar (100% - (% proteínas + % lipídeos + % cinzas)). ^{***}B1 lê-se Bloco 1 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial; B2 lê-se Bloco 2 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa; B3 lê-se Bloco 3 - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático; Tratamentos: B1T7 e B2T7 (140°C, 13,17% umidade); B1PC, B2PC e B3PC são pontos centrais (140°C, 16% umidade); B1T8 e B2T8 (140°C, 18,83% umidade).

Conforme a Tabela 32, o sorgo possui carboidratos em maior concentração em sua composição com 82,0%, sendo a maior parte de amido como mostram Rostagno et al. (2005) e Bustos (1988) cujo sorgo possui 69,1 e 71,0% de amido em base seca, respectivamente. O sorgo possui em sua composição 12,3, 3,9 e 1,8%, em base seca, de proteínas, lipídeos e cinzas, respectivamente (Tabela 32), valores próximos ao relatado por Rostagno et al. (2005) em sorgo com baixo teor de tanino, exceto para proteínas com 10,5% em base seca. Bustos (1988) encontrou em sorgo apenas os valores de proteínas e lipídeos diferentes, 15,1 e 5,1%, respectivamente.

Os dados de referência de acordo com o USDA (2011) referentes à composição centesimal do sorgo expressos em porcentagem na base seca são: proteínas 12,4%, lipídios 3,6%, cinzas 1,7%, carboidratos (sem descontar a fibra) 82,2 e fibra alimentar 6,9%. Valores semelhantes aos encontrados no presente estudo (Tabela 32), no qual não se determinou o teor de fibra alimentar. Como o sorgo utilizado foi integral e os valores dos demais constituintes foram semelhantes, provavelmente o teor de fibra deve ser próximo ao da referência USDA.

Observou-se que o processo de extrusão, nos diferentes blocos, promoveu uma redução do teor de lipídeos comparados com suas respectivas matérias-primas (Tabela 32), assim como observado por Silva (2010) em farinha extrudada de milho e feijão e Gualberto et al. (1997) em extrudado de farelo de aveia. Provavelmente, essa perda foi provocada pela

volatilização de alguns ácidos graxos devido à temperatura alta fornecida pelo extrusor. Porém não se observou diferença relevante entre o teor de lipídeos dos extrudados quando comparados os tratamentos T7 e T8, considerados de maior e menor severidade, respectivamente, tanto do bloco 1 quanto do bloco 2. Mas houve diferença quando comparado com as respectivas matérias-primas (sorgo MP, B1 e B2).

Verificou-se que o processo de extrusão não provocou grande variação na composição das farinhas de sorgo, assim como observado por Bustos (1988) em farinha extrudada de sorgo e por Torres et al. (2005) em farinha extrudada de banana verde.

3.4.2 Minerais

Os resultados quanto ao teor de minerais das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas (sorgo B1, sorgo B2 e sorgo MP, respectivamente) encontram-se na Tabela 33.

Tabela 33. Teor dos minerais (mg/100g em base seca) do sorgo (matéria-prima), sorgo tratado com enzima comercial (matéria-prima do bloco 1), sorgo tratado com enzima Embrapa (matéria-prima do bloco 2) e amostras extrudadas de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima).

| Amostras * | Sódio | Potássio | Magnésio | Cálcio | Manganês | Ferro | Zinco | Cobre | Fósforo | Selênio |
|--------------------|--------|----------|----------|--------|----------|-------|-------|-------|---------|---------|
| Sorgo (MP) | 2,06 | 382,28 | 171,85 | 14,05 | 2,02 | 4,16 | 2,80 | 0,17 | 400,71 | ND** |
| Sorgo B1 | 281,42 | 362,81 | 158,58 | 14,11 | 1,74 | 5,84 | 2,57 | 0,19 | 368,95 | ND |
| Sorgo B2 | 222,36 | 491,64 | 187,10 | 14,51 | 2,12 | 5,01 | 3,10 | 0,23 | 421,96 | ND |
| B1PC | 295,01 | 379,56 | 173,74 | 15,24 | 1,93 | 6,42 | 2,98 | 0,21 | 395,07 | ND |
| B2PC | 222,67 | 484,31 | 185,97 | 16,00 | 2,11 | 5,37 | 3,25 | 0,23 | 420,77 | ND |
| B3PC (controle) | 2,32 | 377,73 | 171,28 | 14,03 | 1,92 | 4,80 | 2,70 | 0,19 | 381,05 | ND |

*B1 lê-se Bloco 1 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial; B2 lê-se Bloco 2 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa; B3 lê-se Bloco 3 - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático; Tratamentos: B1PC, B2PC e B3PC são pontos centrais (140°C, 16% umidade). **Não detectado

Conforme a Tabela 33, os teores de minerais, expressos em mg/100g em base seca, para o sorgo (matéria-prima utilizada para tratamento enzimático e extrusão) foram: sódio 2,06; potássio 382,28, magnésio 171,85; cálcio 14,05; manganês 2,02; ferro 4,16; zinco 2,8; cobre 0,17 e fósforo 400,71. Alguns minerais com valores próximos e outros nem tanto ao relatado por Rostagno et al. (2005) em sorgo com baixo teor de tanino, com teor de sódio 22; potássio 386; magnésio 125; cálcio 34; manganês 1,24; ferro 6,8; zinco 2,11; cobre 0,86 e fósforo 296 mg/100g em base seca. Essas variações podem ocorrer em função da variedade do sorgo, clima, solo.

Os dados de referência de acordo com a USDA (2011) referentes ao teor de minerais de sorgo expressos em (mg/100g em base seca) são: sódio 6,6; potássio 385,5; cálcio 30,8; ferro 4,8; e fósforo 316,1. Alguns desses valores próximos aos encontrados no presente estudo para o sorgo (matéria-prima utilizada para tratamento enzimático e extrusão), com teor de sódio de 2,06; potássio 382,28; cálcio 14,05; ferro 4,16; e fósforo 400,71 mg/100g em base seca (Tabela 33).

De acordo com a Tabela 33, observou-se que após tratamento enzimático não apresentou grande variação do conteúdo de minerais, exceto para sódio e potássio. O sódio aumentou principalmente devido ao tampão acetato de sódio adicionado junto com a enzima. Já o potássio só aumentou na farinha de sorgo tratada com a enzima Embrapa, pois esta não

estava purificada, conforme a enzima comercial, ou seja, era um extrato bruto que além da fitase continha outros sólidos, como o mineral potássio.

Verificou-se que o processo de extrusão não provocou variações quanto ao teor de minerais nos diferentes blocos comparados com suas respectivas matérias-primas (Tabela 33), sendo a variação provocada pelo tratamento enzimático conforme discutido anteriormente. Silva (2010) em farinha extrudada de milho e feijão concluiu que o processamento por extrusão termoplástica manteve a integridade das amostras extrudadas quanto ao conteúdo mineral analisado corroborando com o presente trabalho.

Conforme a Tabela 33, os teores de minerais (mg/100g em base seca) para as farinhas extrudadas referentes aos tratamentos B1PC e B2PC foram respectivamente: potássio (379,56 e 484,31), magnésio (173,74 e 185,97), cálcio (15,24 e 16,00), manganês (1,93 e 2,11), ferro (6,42 e 5,37), zinco (2,98 e 3,25), cobre (0,21 e 0,23) e fósforo (395,07 e 420,77).

De acordo com a RDC n° 269/05 da ANVISA (BRASIL, 2005), a ingestão diária recomendada (IDR) de magnésio, cálcio, manganês, ferro, zinco, cobre e fósforo para adultos é 260; 1000; 2,3; 14; 7; 0,9 e 700mg, respectivamente. Dessa forma, as farinhas extrudadas referentes aos tratamentos B1PC e B2PC podem suprir em adultos, respectivamente, 67 e 72% da IDR para magnésio, 1,5 e 1,6% para cálcio, 84 e 92% para manganês, 46 e 38% para ferro, 43 e 46% para zinco, 23 e 26% para cobre e 56 e 60% para fósforo.

A IDR para crianças entre 4 e 6 anos de acordo com a RDC n° 269/05 (BRASIL, 2005) para magnésio, cálcio, manganês, ferro, zinco, cobre e fósforo é 73; 600; 1,5; 6; 5,1; 0,44 e 500mg, respectivamente. Com isso, as farinhas extrudadas referentes aos tratamentos B1PC e B2PC podem suprir em crianças entre 4 e 6 anos, respectivamente, 238 e 255% da IDR para magnésio, 2,5 e 2,7% para cálcio, 129 e 141% para manganês, 107 e 90% para ferro, 58 e 64% para zinco, 48 e 52% para cobre e 79 e 84% para fósforo.

Portanto, as farinhas extrudadas podem atender boa parte da IDR quanto aos minerais discutidos com exceção do cálcio. Em alguns minerais a IDR ultrapassa 100%, principalmente para crianças entre 4 e 6 anos, pois suas necessidades são menores quando comparadas as dos adultos. Porém, existem fatores antinutricionais, como o ácido fítico, que diminuem a absorção de minerais pelo organismo. Para isso, o sorgo foi tratado enzimaticamente com fitase diminuindo drasticamente o teor desse fator antinutricional.

3.4.3 Perfil de Aminoácidos

Existem fatores que afetam a digestibilidade da proteína do sorgo devido a interações de proteínas com componentes não protéicos, como exemplo fitatos, taninos, amido (MESA-STONESTREET et al., 2010). Pelo fato da variedade utilizada não possuir taninos, da hidrólise do fitato com uso de fitase e do processo de extrusão termoplástica o sorgo integral utilizado nesse trabalho de tese, provavelmente, teve um aumento de sua digestibilidade.

Os resultados quanto ao perfil de aminoácidos das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e fitase Embrapa (Bloco 2), além do controle (sem tratamento enzimático) e suas respectivas matérias-primas (sorgo B1, sorgo B2 e sorgo MP, respectivamente) encontram-se na Tabela 34.

Tabela 34. Perfil de aminoácidos (g/100g em base seca) do sorgo (matéria-prima), sorgo tratado com enzima comercial (matéria-prima do bloco 1), sorgo tratado com enzima Embrapa (matéria-prima do bloco 2) e amostras extrudadas de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima).

| Amostras* | ASP | SER | GLU | GLY | HIS | ARG | THR | ALA | PRO | TYR | VAL | LYS | ILE | LEU | PHE | TRY |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Sorgo (MP) | 0,83 | 0,60 | 2,80 | 0,38 | 0,25 | 0,38 | 0,41 | 1,16 | 0,88 | 0,44 | 0,54 | 0,57 | 0,45 | 1,61 | 0,55 | 0,10 |
| Sorgo B1 | 0,88 | 0,64 | 2,99 | 0,39 | 0,26 | 0,39 | 0,43 | 1,24 | 0,94 | 0,46 | 0,57 | 0,56 | 0,47 | 1,72 | 0,64 | NR** |
| Sorgo B2 | 0,90 | 0,62 | 2,81 | 0,41 | 0,25 | 0,43 | 0,43 | 1,15 | 0,87 | 0,45 | 0,58 | 0,61 | 0,47 | 1,61 | 0,60 | NR |
| B1T7 | 0,80 | 0,59 | 2,83 | 0,37 | 0,24 | 0,26 | 0,39 | 1,16 | 0,99 | 0,44 | 0,55 | 0,43 | 0,46 | 1,68 | 0,62 | NR |
| B1PC | 0,78 | 0,57 | 2,63 | 0,37 | 0,22 | 0,32 | 0,38 | 1,10 | 0,79 | 0,39 | 0,50 | 0,50 | 0,39 | 1,40 | 0,52 | NR |
| B1T8 | 0,81 | 0,61 | 2,81 | 0,37 | 0,24 | 0,30 | 0,41 | 1,17 | 0,93 | 0,44 | 0,55 | 0,41 | 0,46 | 1,67 | 0,63 | NR |
| B2T7 | 0,81 | 0,57 | 2,59 | 0,37 | 0,21 | 0,32 | 0,38 | 1,07 | 0,80 | 0,39 | 0,50 | 0,48 | 0,41 | 1,42 | 0,53 | NR |
| B2PC | 0,86 | 0,61 | 2,72 | 0,39 | 0,24 | 0,37 | 0,42 | 1,13 | 0,90 | 0,44 | 0,56 | 0,48 | 0,47 | 1,62 | 0,62 | NR |
| B2T8 | 0,92 | 0,62 | 2,89 | 0,40 | 0,25 | 0,41 | 0,43 | 1,17 | 0,88 | 0,45 | 0,57 | 0,55 | 0,46 | 1,61 | 0,60 | NR |
| B3PC (controle) | 0,80 | 0,58 | 2,73 | 0,37 | 0,24 | 0,36 | 0,39 | 1,13 | 0,87 | 0,41 | 0,53 | 0,54 | 0,43 | 1,57 | 0,59 | NR |

*B1 lê-se Bloco 1 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase comercial; B2 lê-se Bloco 2 - Farinha de sorgo integral tratada enzimaticamente com fitase Embrapa; B3 lê-se Bloco 3 - Farinha de sorgo integral sem tratamento enzimático; Tratamentos: B1T7 e B2T7 (140°C, 13,17% umidade); B1PC, B2PC e B3PC são pontos centrais (140°C, 16% umidade); B1T8 e B2T8 (140°C, 18,83% umidade); ASP (Asparagina), SER (Serina), GLU (Glutamina), GLY (Glicina), HIS (Histidina), ARG (Arginina), THR (Treonina), ALA (Alanina), PRO (Prolina), TYR (Tirosina), VAL (Valina), LYS (Lisina), ILE (Isoleucina), LEU (Leucina), PHE (Fenilalanina), TRY (Triptofano). **Não realizado

Conforme a Tabela 34, os teores de aminoácidos, expressos em g/100g em base seca, para o sorgo (matéria-prima utilizada para tratamento enzimático e extrusão) foram: glicina+serina 0,98; histidina 0,25; arginina 0,38; treonina 0,41; tirosina 0,44; valina 0,54; lisina 0,57; isoleucina 0,45; leucina 1,61; fenilalanina 0,55 e triptofano 0,10. Valores próximos aos relatados por Rostagno et al. (2005) em sorgo com baixo teor de tanino, com teor de glicina+serina 0,80g/100g em base seca; histidina 0,24; arginina 0,40; treonina 0,35; tirosina 0,51; valina 0,53; isoleucina 0,42; fenilalanina 0,58 e triptofano 0,09; exceto para lisina 0,23 e leucina 1,36 com valores abaixo ao encontrado neste trabalho de tese.

Os dados de referência de acordo com a USDA (2011) referentes ao perfil em aminoácidos de sorgo expressos em (g/100g em base seca) são: asparagina 0,82; serina 0,51; glutamina 2,69; glicina 0,38; histidina 0,27; arginina 0,39; treonina 0,38; alanina 1,14; prolina 0,94; tirosina 0,35; valina 0,62; lisina 0,25; isoleucina 0,48; leucina 1,64; fenilalanina 0,60; triptofano 0,14; metionina 0,19 e cistina 0,14. Valores similares aos encontrados, no presente estudo, para o sorgo (matéria-prima utilizada para tratamento enzimático e extrusão), exceto para lisina cujo teor foi inferior (Tabela 34), além da metionina e cistina que não foram determinados neste trabalho.

De acordo com a Tabela 34, observou-se que após tratamento enzimático não teve variações consideráveis do perfil de aminoácidos. Da mesma forma, o processo de extrusão não provocou variações, apenas uma discreta redução da glutamina, arginina e lisina. Segundo Fellows (2006), as condições de alta temperatura por curto tempo na extrusão e o rápido resfriamento do produto quando emerge da matriz causam perdas relativamente pequenas dos aminoácidos.

Bustos (1988) verificou que o processo de extrusão de duas variedades de sorgo não provocou variações consideráveis do perfil de aminoácidos, conforme encontrado neste estudo.

Paes e Maga (2004) observaram que o processo de extrusão não promoveu redução no conteúdo dos aminoácidos essenciais histidina, metionina, fenilalanina e triptofano, mas reduziu isoleucina, leucina, lisina, treonina e valina das farinhas de milho, porém essa redução foi pequena, variando de 8 a 10%.

Bjorck *et al.* (1983) mostram que houve uma diminuição substancial da lisina com o aumento da temperatura e redução da umidade do processo de extrusão na elaboração de biscoito. A menor perda da lisina foi de 13% em condições de menor severidade e a maior foi de 37% na amostra processada com maior severidade. Depois da lisina a perda de metionina foi a mais acentuada de 26-28% nas condições mais severas. Cistina diminuiu cerca de 17% e a perda em arginina foi de até 20%. O teor de triptofano não alterou em temperatura mais baixa, mas a 210°C a perda foi de 10%. Os aminoácidos asparagina, serina, glutamina, glicina, histidina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, isoleucina, leucina e fenilalanina não se alteraram significativamente. Os autores justificaram que a redução da lisina, cistina, arginina e triptofano foi provavelmente pela participação da reação de Maillard favorecida em condições de alta temperatura.

3.5 CONCLUSÃO

O tratamento enzimático e o processo de extrusão termoplástica não provocaram grandes variações na composição centesimal, minerais e aminoácidos da farinha de sorgo integral.

As farinhas de sorgo integral extrudadas podem atender boa parte da IDR quanto aos minerais discutidos com exceção do cálcio, principalmente para crianças entre 4 e 6 anos, pois suas necessidades desses minerais são menores comparadas aos dos adultos.

O tratamento enzimático e o processo de extrusão termoplástica são boas alternativas para a produção de farinha de sorgo integral pré-cozida com baixo teor de ácido fítico.

CONCLUSÃO FINAL

A fitase produzida foi eficiente na redução do teor de ácido fítico em farinha de sorgo integral, e teve melhor desempenho que a enzima comercial utilizada, além disso apresentou estabilidade tanto a temperatura de aplicação industrial quanto ao armazenamento.

O processo de extrusão termoplástica, trabalho termomecânico, não foi suficiente para diminuir o teor de ácido fítico e nem mesmo quando combinado com o tratamento enzimático nas condições em que foram realizadas o experimento.

As farinhas de sorgo tratadas enzimaticamente e processadas por extrusão produziram farinha de baixa viscosidade em água.

O tratamento enzimático e o processo de extrusão termoplástica não provocaram grandes variações na composição centesimal, minerais e aminoácidos da farinha de sorgo integral. E, podem ser considerados boas alternativas para a produção de farinha de sorgo integral pré-cozida com baixo teor de ácido fítico.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há a necessidade de testes de formulação utilizando a farinha para elaboração de diferentes alimentos para consumo humano, bem como testes de aceitabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, T.; RASOOL, S.; SARWAR, M.; HAQ, A.; HASAN, Z. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, n. 2, p. 103-14, 2000.
- AJAKAIYE, C. O. Amino acid composition of sorghum grains as influenced by grain maturity, genotype, and nitrogen fertilization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 47-50, 1984.
- AL-RABADI, G. J.; TORLEY, P. J.; WILLIAMS, B. A.; BRYDEN, W. L.; GIDLEY, M. J. Particle size of milled barley and sorghum and physico-chemical properties of grain following extrusion. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 464-72, 2011.
- ANDERSSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN, L. E. J. Roll and extrusion cooking of grain sorghum grits. **Cereal Science Today**, v. 14, n. 11, p. 372-6, 1969a.
- ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PFEIFER, V. F.; GRIFFIN, E. L. JR. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, n. 1, p. 4-12, 1969b.
- ANGLANI, C. Sorghum for human food – A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 52, p. 85-95, 1998.
- ANTOINE, A. A.; JACQUELINE, D.; THONART, P. Xylanase production by *Penicillium canescens* on soya oil cake in solid-state fermentation. **Appl Biochem Biotechnol**, n. 160, p. 50-62, 2010.
- ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C.W.P. Caracterização da farinha de bagaço de jabuticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 897-905, 2006a.
- ASCHERI, D. P. R.; ANDRADE, C. T.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R. Obtenção de farinhas mistas pré-gelatinizadas a partir de arroz e bagaço de jabuticaba: efeito das variáveis de extrusão nas propriedades de pasta. **Boletim do CEPPA**, v. 24, n. 1, p. 115-144, 2006b.
- ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. **Curso de processo de extrusão de alimentos: aspectos tecnológicos para o desenvolvimento e produção de alimentos para consumo humano e animal**. Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, 2008, 89p.
- ASCHERI, J. L. R.; CIACCO, C. F.; RIAZ, M. N.; LUSAS, E. W. Efecto de la formulación sobre las expansión y viscosidad de snacks (pellets) producidos por extrusión termoplástica. **Alimentaria**, v. 286, n. 12, p. 111-6, 1995.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC)**. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 16ª edição. Washington, 2005.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC)**. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 18ª edição. Washington, 2010.

BECKER, A.; HILL, S. E.; MITCHELL, J. R. Milling – a further parameter affecting the rapid visco analyser (rva) profile. **Cereal Chemistry**, n. 78, p. 166-72, 2001.

BELTON, P. S.; TAYLOR, J. R. N. Sorghum and millets: protein sources for Africa. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p. 94-8, 2004.

BJORCK, I.; NOGUCHI, A.; ASP, N. G.; CHEFTEL, J. C.; DAHLQVIST, A. Protein nutritional value of a biscuit processed by extrusion cooking: effects on available lysine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, p. 488-92, 1983.

BLIX, S. The determination of hexosamines according to Elson and Morgam. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 2, p. 467-78, 1948.

BOGAR, B.; SZAKACS, G.; PANDEY, A.; ABDULHAMEED, S.; LINDEN, J.C.; TENDERDY, R.P. Production of phytase by *Mucor racemosus* in solid-state fermentation. **Biotechnology Progress**, v. 19, p. 312-9, 2003.

BORGES, T. P.; PIROZI, M. R.; HOYOS, D. D. M.; SOUZA, N. A. S.; CAMPELO, F. A.; COSTA, R. F. Utilização de sorgo brasileiro na produção de biscoito tipo amanteigado. In: Simpósio Agroalimentario, 2011, Cordoba, 2º Simpósio Internacional Agroalimentario. Cordoba – Colombia, 2011. Disponível em: <<http://www.unicordoba.edu.co/pregrado/alimentos/MEMORIAS/pdf/ARTICULOS%20CORTOS%20TECNOLOGIA/BORGES%20T,%20BRASIL.pdf>>. Acesso em 20 de dez. de 2011.

BOX, G. E. P.; DRAPER, N. R. **Empirical model-building with response surface**. A book published, 1967.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis and model building**. New York: John Wiley & Sons, 1978.

BRASIL. Lei nº 10.674 de 16 de maio de 2003. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 mai. 2003. Seção 1.

BRASIL. Lei nº 8.543 de 23 de dezembro de 1992. Determina a impressão de advertência em rótulos e embalagens de alimentos industrializados que contenham glúten, a fim de evitar a doença celíaca ou síndrome celíaca. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 dez. 1992.

BRASIL. Resolução RDC nº 269 de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1.

BRASIL. Resolução RDC nº 40 de 08 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico para rotulagem de alimentos e bebidas embalados que contenham glúten. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 fev. 2002. Seção 1.

BURBANO, C.; MUZQUIZ, M.; OSAGIE, A.; AYET, G.; CUADRADO, C. Determination of phytate and lower inositol phosphates in spanish legumes by HPLC methodology. **Food Chemistry**, v.52, n.3, p.321-5, 1995.

BURLESON, C. A.; COWLEY, W. R.; OTEY, G. Effect of nitrogen fertilization on yield and protein content of grain sorghum in the lower Rio Grande valley of Texas. **Agronomy Journal**, v. 48, p. 524-5, 1956.

BUSTOS, F. M. **Obtenção de farinhas instantâneas de sorgo para tortillas pelo processo de extrusão**. Campinas, 1988, 180f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1988.

CAMDEN, B. J.; MOREL, P. C. H.; THOMAS, D. V.; RAVINDRAN, V.; BEDFORD, M. R. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize –soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v. 73, n. 2, p. 289-97, 2001.

CAMPBELL-PLATT, G. Fermented foods - a world perspective. **Food Research International**, v. 27, p. 253–7, 1994.

CARVALHO, C. W. P.; TAKEITI, C. Y.; ONWULATA, C. I.; PORDESIMO, L. O. 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. 103-9, 2010.

CARVALHO, R. V. **Formulações de snacks de terceira geração por extrusão: caracterização texturométrica e microestrutural**. Minas Gerais, 2000. 88p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

CARVALHO, R. V.; ASCHERI, J. L. R.; CAL-VIDAL, J. Efeito dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de pellets (3G) de misturas de farinhas de trigo, arroz e banana. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 5, p. 1006-18, 2002.

CHAMPE, B. C. Enzimas. In: CHAMPE, B. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica ilustrada**. 2 ed. São Paulo: Artes Medicas, p. 53-66, 1989.

CHANDRASHEKAR, A.; SHEWRY, P. R.; BANDYOPADHYAY, R. Some solutions to the problem of grain mold in sorghum: a review. 2000. Disponível em: <<http://www.icrisat.org/text/research/grep/homepage/sgmm/chapter7.pdf>>. Acesso em 28 de mar. de 2012.

CHARNEY, J.; TOMARELLI, R. M. A colorimetric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 170, n. 23, p. 501-5, 1947.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, n. 4, p. 297-335, 1980.

CHRISTENSEN, L. Phytase reduz em 30% o fósforo no esterco. **BioTimes**, p. 8-9, 1995.

CIACCI, C.; MAIURI, L.; CAPORASO, N.; BUCCI, C.; DEL GIUDICE, L.; RITA MASSARDO, D.; PONTIERI, P.; DI FONZO, N.; BEAN, S. R.; IOERGER, B.; LONDEI, M. Celiac disease: in vitro and in vivo safety and palatability of wheat-free sorghum food products. **Clinical Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 799-805, 2007.

CLERICI, M. T. P. S.; EL-DASH, A. A. Características tecnológicas de farinhas de arroz pré-gelatinizadas obtidas por extrusão termoplástica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1543-50, 2008.

Committee on Micronutrient Deficiencies, (1998). Prevention of micronutrient deficiencies: tools for policymakers and public health workers. (C.P. Howson, E. T. Kennedy and A. Horwitz, Eds), National Academy Press. Washington, DC. 224p.

CONAB. - Companhia Nacional de Abastecimento. 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_08_09_11_44_03_boletim_agosto-2011..pdf>. Acesso em 07 de dez. de 2011.

CONCEIÇÃO, L. L.; QUEIROZ, V. A. V.; RODRIGUES, J. A. S.; PIROZI, M. R.; TARDIN, F. D.; DANTAS, M. I. S.; MARTINO, H. S. D. Caracterização nutricional tecnológica de cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*) destinados a alimentação humana. In: Congresso Mineiro de Alimentação e Nutrição, 2009, Ouro Preto. Resumos expandidos. Ouro Preto: UFOP, v. 3, 2009.

CONSUEGRO, J. P. Uso de fitasa microbiana em dietas para avicultura. **Industria Avícola**, v. 46, n. 5, p. 27-8, mai. 1999.

CONTE, A. J.; TEIXEIRA, A. S.; TADEU FILHO, E.; SCHOULTEN, N. A.; BERTECHINI, A. G. Efeito da fitase e xilanase sobre o desempenho e as características ósseas de frangos de corte alimentados com dietas contendo farelo de arroz. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1147-56, 2003.

COSTA, F. G. P.; BRANDÃO, P. A.; BRANDÃO, J. S.; VILAR DA SILVA, J. H. Efeito da enzima fitase nas rações de frangos de corte, durante as fases pré-inicial e inicial. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 865-70, 2007.

COURI, S.; FARIAS, A. X. Genetic manipulation of *Aspergillus niger* for increased synthesis of pectinolytic enzymes. **Revista de Microbiologia**, v. 26, p. 314-7, 1995.

COURI, S.; TERZI, S. C.; PINTO, G. A. S.; FREITAS, S. P.; COSTA, A. C. A. Hydrolytic enzyme production in solid-state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 255-61, 2000.

DAMASO, M. C. T.; ANDRADE, C. M. M. A.; PEREIRA JÚNIOR, N. Production and properties of the cellulase-free xylanase from *thermomyces lanuginosus* ioc-4145. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 333-8, 2002.

DENDY, D. A. V. **Sorghum and millets: chemistry and technology**. St. Paul, 1995.

DICKO, M. H.; GRUPPEN, H.; TRAORÉ, A. S.; VORAGEN, A. G. J.; BERKEL, W. J. H. Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. **African Journal Biotechnology**, v. 5, n. 5, p. 384-95, 2006.

DING, Q.; AINSWORTH, P.; PLUNKETT, A.; TUCKER, G.; MARSON, H. 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. 283-9, 2005.

DURAND, A. Bioreactor designs for solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v.13, p. 113-25, 2003.

EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterda, v. 47, p. 19-29, 1994.

EL-DASH, A. A. Application and control of thermoplastic extrusion of cereals for food and industrial uses. In: POMERANZ, Y.; MUNCH, L. eds. **Cereals: A renewable resource; theory and practice**. St. Paul, Minnesota, AACC, p. 1-52, 1982.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção, 2 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica, 4ª edição, Set. de 2008. Disponível em <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_4_ed/index.htm>. Acesso em 06 de out. de 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Embrapa Milho e Sorgo. Disponível em <<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/noticias/2009/julho/3a-semana/pesquisadores-debatem-sobre-o-sorgo-na-mesa-dos-brasileiros>>. Acesso em 06 de out. de 2009.

ENGELLEN, A. J.; HEEFT, F. C. V. D.; RANDOSDORP, P. H. G.; SMITH, L. C. Simple and rapid determination of phytase activity. **Journal of AOAC**. International, Gaithersburg, v. 77, n. 3, 1994.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. **El sorgo y el mijo en la nutrición humana**. Roma, 1995.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Reducing ochratoxin A in coffee. Disponível em: <http://www.coffee-ota.org/otacoffee_what.asp>. Acesso em 5 de mar. de 2012.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). **Protein quality evaluation**; Report of Joint FAO/WHO expert consultation. Rome: WHO, 1991, 66 p.

FAPOJUWO, O. O.; MAGA, J. A.; JANSEN, G. R. Effect of extrusion cooking on in vitro protein digestibility of sorghum. **Journal of Food Science**, v. 52, p. 218-9, 1987.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processado de Alimentos: Princípios e Prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602p

FENACELBRA - Federação Nacional das Associações de Celíacos do Brasil. O que é a doença celíaca? Disponível em: <<http://www.doencaceliaca.com.br/doencaceliaca.htm>>. Acesso em 25 de jun. de 2011.

FERNANDES, M. L. M. **Produção de lipases por fermentação no estado sólido e sua utilização em biocatálise**. Curitiba, 2007. 131f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

FERNANDES, M. S.; WANG, S. H.; ASCHERI, J. L. R.; OLIVEIRA, M. F.; COSTA, S. A. Produtos extrusados expandidos de misturas de canjiquinha e soja para uso como petiscos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1495-501, 2002.

FERREIRA, S. M. R.; LUPARELLI, P. C.; SCHIEFERDECKER, M. E. M.; VILELA, R. M. Cookies sem glúten a partir da farinha de sorgo. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 59, n. 4, p. 433-40, 2009.

FREITAS, S. C.; CONTE, C.; SIMAS, E. S.; SILVA, T. S.; SANTOS, J. O.; RAMOS, G. D. M. Comparação estatística de métodos de quantificação de fósforo visando otimizar a determinação de fitato em sorgo. In: ENAAL 2011 – XVII Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 2011, Cuiabá, XVII Encontro Nacional e III Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos. Cuiabá-MT, 2011, CD-ROM.

FRONTELA, C.; ROS, G.; MARTINEZ, C. Empleo de fitasas como ingrediente funcional en alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, n. 3, p. 215-20, 2008.

FURUYA, W. M.; GONÇALVES, G. S.; FURUYA, V. R. B.; HAYASHI, C. Fitase na alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 924-9, 2001.

GONCALVES, G. S.; PEZZATO, L. E.; PADILHA, P. M.; BARROS, M. M. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p. 1473-80, 2007.

GREINER, R. Purification and Properties of a Phytate-degrading Enzyme from *Pantoea agglomerans*. **The Protein Journal**, v. 23, p. 567-76, 2004.

GREINER, R.; SILVA, L. G.; COURI, S. Purification and characterisation of an extracellular phytase from *Aspergillus niger* 11T53A9. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 795-807, 2009.

GUERRA DE MODERNELL, M. J. **Desenvolvimento de um processo de moagem de sorgo (*sorghum bicolor* L. Moench) e de produção de farinhas pré-gelatinizadas**. Campinas, 1984, 233f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1984.

GUERREIRO, L. **Produtos Extrusados para Consumo Humano, Animal e Industrial**. Dossiê Técnico – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT. Rio de Janeiro, 2007, 25p.

HAN, Y. W. Removal of phytic acid from soybean and cottonseed meals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 1181-3. 1988

HAN, Y.; LEI, X. G. Role of glycosylation in the functional expression of an *Aspergillus niger* phytase (phyA) in *Pichia pastoris*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 364, n. 83-90, 1999.

HAROS, M.; ROSELL, C. M.; BENEDITO, C. Use of fungal phytase to improve breadmaking performance of whole wheat bread. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 49, p. 5450–4, 2001.

HEINONEN, J. K.; LAHTI, R. J. A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase. **Analytical Biochemistry**, v. 113, p. 313-7, 1981.

HUSSIN, A. S. M.; FAROUK, A. E.; GREINER, R.; SALLEH, H. M.; ISMAIL, A. F. Phytate-degrading enzyme production by bacteria isolated from Malaysian soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 1653–60, 2007.

IN, M. J.; SEO, S. W.; KIM, D. C.; OH, N. S. Purification and biochemical properties of an extracellular acid phytase produced by the *Saccharomyces cerevisiae* CY strain. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 122–6, 2009.

INTSORMIL - International Sorghum and Millet Collaborative Research Support Program. **Sorghum: an ancient, healthy and nutritious old world cereal**. 2010. Disponível em: <<http://intsormil.org/smscientificpubs/Sorghum%20Ancient%20Grain%20Final-INTSORMIL.pdf>>. Acesso em 20 de ago. de 2011.

JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z.; KEMME, P. A. The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diet for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total P, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 4, p. 1159-68, 1992.

KARIN, A. A.; TOON, L. C.; LEE, V. P. L.; ONG, W. Y.; FAZILAH, A.; NODA, T. Effects of phosphorus contents on the gelatinization and retrogradation of potato starch. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 2, p. 132-8, 2007.

KIM, J. C.; SANDS, J. S.; MULLAN, B. P.; PLUSKE, J. R. Performance and total-tract digestibility responses to exogenous xylanase and phytase in diets for growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 142, p. 163-72, 2008.

KOZAKIEWICZ, Z. 1989. *Aspergillus* species on stored products. CAB International Mycological Institute, Kew, Surrey.

- KUMAR, K. G.; VENKATARAMAN, L. V.; JAVA, T. V.; KRISHNAMURTHY, K. S. Cooking characteristics of some germinated legumes: changes in phytins, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ and pectins. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 85-90, 1978.
- LE FRANCOIS, P. Phytic acid and Zinc contents of cereal products: relation to the manufacturing process. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 1, p. 139-45, 1988.
- LEI, X.G.; PORRES, J.M. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. **Biotechnology Letters**, v.25, n.21, p.1787-94, 2003.
- LEONEL, M.; MISCHAN, M. M.; PINHO, S. Z.; IATAURO, R. A.; DUARTE FILHO, J. Efeitos de parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de produtos expandidos de inhame. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 459-64, 2006.
- LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. Biotecnologia Industrial. São Paulo, Edgard Blücher Ltda, vol.3, 2002.
- LINEBACK, D. R. The starch granule: organization and properties. **Bakers Digest**, n. 58, p. 16-21, 1984.
- LÜDKE, M. C. M. M.; LÓPEZ, J.; BRUM, P. A. R.; LÜDKE, J. V. Influência da fitase na utilização de nutrientes em dietas compostas por milho e farelo de soja para suínos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1402-13, 2000.
- LUSTOSA, B. H. B.; LEONEL, M. Desenvolvimento de misturas instantâneas de mandioca e caseína: efeito do teor de proteína e parâmetros de extrusão sobre a viscosidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 693-9, 2010.
- MAHASUKHONTHACHAT, K.; SOPADE, P. A.; GIDLEY M. J. Kinetics of starch digestion and functional properties of twin-screw extruded sorghum. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 392-401, 2010.
- MALLIN, M. A. Impacts of industrial animal production on rivers and estuaries. **American Science**, v. 88, p. 26-37, 2000.
- MARTÍNEZ, B. F.; PAU, C. L. Extrusão de sorgo integral e decortificado. **Agronomía Mesoamericana**. v. 3, p. 40-4, 1992.
- MATUSCHEK, E.; SVANBERG, U. The effect of fruit extracts with polyphenol oxidase (PPO) activity on the in vitro accessibility of iron in high-tannin sorghum. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 765-71, 2005.
- McDONALD, W. UCSF – University of California, San Francisco. Department of Laboratory Medicine. **Morphology of Medically Important Fungi**, San Francisco, 2002. Disponível em: http://pangloss.ucsfmedicalcenter.org/Education/fung_morph/homepage1.html. Acesso em 18 de dez. de 2011.
- MERCIER, C.; CHARBONNIERE, R.; GREBAUT, J.; DE LA GUERIVIERE, J. F. Formation of amylose-lipid complexes by twin-screw extrusion cooking of manioc starch. **Cereal Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 4-9, 1980.
- MESA-STONESTREET, N. J.; ALAVI, S.; BEAN, S. R. Sorghum proteins: the concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. Reviews. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 5, p. 90-104, 2010.
- MIKSCH, G.; KLEIST, S.; FRIEHS, K.; FLASCHEL, E. Overexpression of the phytase from *Escherichia coli* and its extracellular production in bioreactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 685-94, 2002.

- MOHAMMED, N. A.; AHMED, I. A. M.; BABIKER, E. E. Nutritional evaluation of sorghum Flour (*Sorghum bicolor* L. Moench) during processing of injera. **International Journal of Biological and Life Sciences**, v. 6, n. 1, p. 35-9, 2010.
- MULLANEY, E. J.; ULLAH, A. H. J. The term phytase comprises several different classes of enzymes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 312, p. 179–84, 2003.
- MWESIGYE, P. K.; OKURUT, T. O. A survey of the production and consumption of traditional alcoholic beverages in Uganda. **Process Biochemistry**, v. 30, p. 497-501, 1995.
- NASCIMENTO, E. M. G. C. **Elaboração de produtos de milho enriquecidos com grãos e torta semi-desengordurada de gergelim por extrusão termoplástica**. Seropédica, 2010. 125f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.
- NOLAN, K. B.; DUFAFIN, P. A. Effects of phytase on mineral bioavailability, *in vitro* studies on Mg²⁺, Ca²⁺, Fe²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ (also Cd²⁺) solubility in the presence of phytase. **Journal Science Food Agriculture**, v. 40, p. 79-85, 1987.
- OLIVEIRA, G. D. **Obtenção de produtos extrusados expandidos e não-expandidos de casca de soja e milho**. Seropédica, 2007. 104f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Tecnologia. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- ORDONEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v. 1, 2005, 294p.
- PAES, M. C. D.; MAGA, J. Effect of extrusion on essential amino acids profile and color of whole-grain flours of quality protein maize (QPM) and normal maize cultivars. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, n. 1, p. 10-20, 2004.
- PANDEY, A. (2008, June 13). Solid-state fermentation. *SciTopics*. Retrieved January 6, 2012, from http://www.scitopics.com/Solid_state_fermentation.html.
- PAULA, A. V.; MOREIRA, A. B. R.; BRAGA, L. P.; CASTRO, H. F.; BRUNO, L. M. Comparação do desempenho da lipase de *Candida rugosa* imobilizada em suporte híbrido de polissiloxano-polivinilálcool empregando diferentes metodologias. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 35-40, 2008.
- PELEMBE, L. A. M.; ERASMUSW, C.; TAYLOR, J. R. N. Development of a Protein-rich Composite Sorghum–Cowpea Instant Porridge by Extrusion Cooking Process. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, 35, n. 2, p. 120–7, 2002.
- PENZ Jr., A. M. Enzimas em rações de aves e suínos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35. 1998, Botucatu, SP. **Anais...** Botucatu, SP: SBZ, p.165-78, 1998.
- POLTRONIERI, F.; ARÊAS, J. A. G.; COLLI, C. Extrusion and iron bioavailability in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Food Chemistry**, v. 70, p. 175-80, 2000.
- PROLL, J.; PETZKE, K. J.; EZEAGU, I. E.; METGES, C. C. Low nutritional quality of unconventional tropical crop seeds in rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 11, p. 2014-22, 1998.
- QUEIROZ, V. A. V.; CARNEIRO, H. L.; VASCONCELLOS, J. H.; RODRIGUES, J. A. S. Aceitação de barra de cereais elaborada com pipoca de sorgo. In: 15° Seminário Latino-Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2008, Belo Horizonte. Anais do 15° Seminário Latino-Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Belo Horizonte : Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2008. v. 1. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/35961/1/Aceitacao-barra.pdf>>. Acesso em 07 de jul. de 2011.

RABOY, V.; NOAMAN, M. M.; TAYLOR, G. A.; PICKETT, S. G. Grain phytic acid and protein are highly correlated in winter wheat. **Crop science**, v. 1, n. 7, p.631-5, 1991.

RAIMBAULT, M. General and microbiological aspects of solid state fermentation. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 1, n. 3, p.1-15, 1998.

RAMOS, G. D. M.; ASCHERI, J. L. R.; COURI, S. Efeito da granulometria da farinha de sorgo no processo de extrusão termoplástica. In: VI Fórum da Pós-Graduação da UFRRJ, 2011, UFRRJ: Seropédica, nov 2011, CD-ROM.

RANI, R.; GHOSH, S. Production of phytase under solid-state fermentation using *Rhizopus oryzae*: Novel strain improvement approach and studies on purification and characterization. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10641-9, 2011.

REDDY, M. B.; LOVE, M. The impact of food processing on the nutritional quality of vitamins and minerals. **Food Safety**, v. 7, p. 99-106, 1999.

REDDY, N. R.; BALAKRISHNAN, C. V.; SALUNKE, D. K. Phytate phosphorus and mineral changes during germination and cooking of blackgram (*Phaseolus mung*) seeds. **Journal of Food Science**, v. 43, p. 540-6, 1978.

REDDY, N. R.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, v. 28, p. 1-92, 1982.

REYES-MORENO, C.; MILÁN-CARRILLO, J.; ROUZAUD-SANDEZ, O.; GARZÓN-TIZNADO, J. A.; MORA-ESCOBEDO, R. Descascarillado/ suavización/ extrusión (dse): alternativa tecnológica para mejorar la calidad nutricional del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) **Agrociencia**, v. 36, n. 2, p. 181-9, 2002.

RIBAS, P. M. Sorgo: introdução e importância econômica. Embrapa Milho e Sorgo: Documento 26. 2004, 14p. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/486642>>. Acesso em 07 de jul. de 2011.

RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, D. E.; RODRÍGUEZ-LEÓN, J. A.; CARVALHO, J. C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; PARADA J. L.; SOCCOL C. R. Recovery of phytase produced by solid-state fermentation on citrus peel. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 6, p. 1487-96, 2010.

ROONEY, L. W.; WANISKA, R. D. (2004). Crop utilization and marketing: food and nutritional quality of sorghum and millet. Report Project TAM-226. Department Texas A&M University College Station Texas, USA. pp. 77843-2474.

ROOPESH, K.; RAMACHANDRAN, S.; NAMPOOTHIRI, K. M.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. Comparison of phytase production on wheat bran and oilcakes in solid-state fermentation by *Mucor racemosus*. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 3, p. 506–11, 2006.

ROSA, C. A. R.; CAMPOS, S. G.; BARONI, F. A.; Práticas de micologia veterinária. UFRRJ. Instituto de veterinária. Departamento de micologia e imunologia veterinária. Micologia Veterinária. Prática 8. Seropédica, 2002.

ROSELL, C. M.; SANTOS, E.; PENELLA, J. M. S.; HAROS, M. Wholemeal wheat bread: A comparison of different breadmaking processes and fungal phytase addition. **Journal of Cereal Science**, v. 50, n. 2, p. 272–7, 2009.

- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabela brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**, Editor: Horacio Santiago Rostagno. 2. ed. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2005. 186p.
- SAKURAI, Y.; LEE, T. H.; SHIOTA, H. On the convenient for glucosamine estimation in Koji. **Agriculture Biology Chemistry**, v. 41, n. 4, p. 619-24, 1977.
- SANDBERG, A. S., CARLSSON, N. G., SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v.54, n.1, p.159-61, 186, 1989.
- SCHAEFER, C. E.; ALBUQUERQUE, M. A.; CHARMELO, L. L.; CAMPOS, J. C. F.; SIMAS, F. B. Elementos da paisagem e a gestão da qualidade ambiental. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 21, p. 202, jan./fev. 2000.
- SCHOBER, T. J.; BEAN, S. R.; BOYLE, D. L. Gluten-free sorghum bread improved by sourdough fermentation: biochemical, rheological, and microstructural background. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, p. 5137-46, 2007.
- SCHONS, P. F.; RIES, E. F.; BATTESTIN, V.; MACEDO, G. A. Effect of enzymatic treatment on tannins and phytate in sorghum (*Sorghum bicolor*) and its nutritional study in rats. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 6, p. 1253–8, 2011.
- SCHUSTER, E.; DUNN-COLEMAN, N.; FRISVAD, J. C.; VAN DIJCK, P. W. M. On the safety of *Aspergillus niger* – a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 426–35, 2002.
- SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. **World's Poultry Science Journal**, v. 54, n. 1, p. 27-47, 1998.
- SEBIO, L. **Efeito de alguns parâmetros operacionais de extrusão nas propriedades físico-químicas da farinha de inhame (*Dioscorea spp.*)**. 1996. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.
- SILVA, A. R. Z. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de fitase por *Aspergillus niger* em fermentação no estado sólido utilizando subprodutos agrícolas para aplicação como aditivo na alimentação de aves e suínos**. Curitiba, 2002. 96 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.
- SILVA, E. M. M. **Desenvolvimento e caracterização físico-química de extrudados de milho e feijão**. Seropédica, 2010. 230f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.
- SILVA, L. G. **Processos enzimáticos para degradação de ácido fítico em formulações a base de lupino (*Lupinus albus*)**. Rio de Janeiro, 2003. 114f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
- SILVA, L. G.; CALADO, V.; COURI, S. Obtenção da fitase de *Aspergillus niger* 11T53A9 por fermentação semi-sólida, em colunas aeradas. In: SLACA 2009 – 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2009, Campinas. 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. Campinas-SP: Unicamp, 2009. v. 1. CD-ROM.
- SILVA, L. G.; FERREIRA, C. R. C.; COURI, S. Seleção de *Aspergillus niger* produtores de fitase. In: Sinaferm 2007- XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos, 2007, Curitiba. Sinaferm

2007- XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos. Curitiba-PR: CIETEP, 2007. v.1 CD-ROM. p. 1-7.

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R. Extrusão de quirera de arroz para uso como ingrediente alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 3, p. 190-9, 2009.

SINGH, B.; SATYANARAYANA, T. Characterization of a HAP-phytase from a thermophilic mould *Sporotrichum thermophile*. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2046-51, 2009.

SINGH, B.; SATYANARAYANA, T. Phytase production by a thermophilic mould *Sporotrichum thermophile* in cost-effective cane molassesmedium and its application in bread. **Journal of Applied Microbiology**, v. 105, p. 1858-65, 2008.

SIQUEIRA, E. M. A.; MENDES, J. F. R.; ARRUDA, S. F. Biodisponibilidade de minerais em refeições vegetarianas e onívoras servidas em restaurante universitário. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 3, p. 229-37, jun. 2007.

SOARES Jr, M. S.; GROSSMANN, M. V. E.; SILVA, R. S. S. F.; CALIARI, M.; SPINOSA, W. A. Expansion and hydration properties of cassava starch extruded with emulsifier. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, n. 1, p. 57-61, 1999.

SOUZA, L. B.; LEONEL, M. Efeito da concentração de fibra e parâmetros operacionais de extrusão sobre as propriedades de pasta de misturas de fécula de mandioca e polpa cítrica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 686-92, 2010.

SPIER, M. R.; GREINER, R.; RODRIGUEZ-LEÓN, J. A.; WOICIECHOWSKI, A. L.; PANDEY, A.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. Phytase production using citrus pulp and other residues of the agro-industry in SSF by fungal isolates. **Food Technology and Biotechnology**, v. 46, p. 178-82, 2008.

SREBERNICH, S. M. **Efeito da umidade, temperatura, velocidade do parafuso e diâmetro da matriz nas características do amido de sorgo submetido à extrusão termoplástica**. 1989 Campinas, 1989, 122f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.

SRIBURI, P.; HILL, S. E. Extrusion of cassava starch with either variations in ascorbic acid concentration or pH. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 141-54, 2000.

TAYLOR, J. R. N.; SCHOBER, T. J.; BEAN, S. R. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science**, v. 44, p. 252-71, 2006.

TH, J. Residence time distributions in twin-screw cooking extruders. In: SPIESS, W.E.L.; SCHUBERT, H. (Eds.) **Engineering and food advanced process**. New York: Elsevier Applied Science, v. 3, p. 290-7, 1990.

TORRES, L. L. G.; EL-DASH, A. A.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.; GERMANI, R.; MIGUEZ, M. Efeito da umidade e da temperatura no processamento de farinha de banana verde (*Musa acuminata*, grupo AAA) por extrusão termoplástica. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 273-90, 2005.

TRUGO, L. C.; DONANGELO, C. M.; TRUGO, N. M. F.; BACH KNUDSEN, K. E. Effect of heat treatment on nutritional quality of germinated legume seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2082-6, 2000.

UMMADI, P.; CHENOWETH, W. L.; UEBERSAX, M. A. The influence of extrusion processing on iron dialyzability, phytates and tannins in legumes. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 19, n. 2, p. 119-31, 1995.

USDA (United States Department of Agriculture). World Agricultural Production. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em 07 de jan. de 2012.

USDA-United States Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24 (Set 2011). Disponível em <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/6368?fg=&man=&lfacet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Full&new=>>>. Acesso em 26 de jan. de 2012.

VAN DEN EINDE, R. M.; AKKERMANS, C.; VAN DER GOOT, A. J.; BOOM, R. M. Molecular breakdown of corn starch by thermal and mechanical effects. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 415-22, 2004.

VARAVINIT, S.; SHOBSNGOB, S.; VARANYANOND, W.; CHINACHOT, P.; NAIVIKUL, O. Efeito do conteúdo de amilose nas propriedades de gelatinização, retrogradação e de viscosidade de pasta de farinhas de diferentes cultivares de arroz tailandês. © WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2003.

VATS, P.; BANERJEE, U. C. Production studies and catalytic properties of phytases (*myo*-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, p. 3-14, 2004.

VERNAZA, M. G.; CHANG, Y. K.; STELL, C. J. Efeito do teor de maracujá e da umidade e temperatura de extrusão no desenvolvimento de cereal matinal funcional orgânico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 145-54, 2009.

VIVEROS, A.; BRENES, A.; ARIJA, I.; CENTENO, C. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. **Poultry Science**, v. 81, n. 7, p. 1172-83, 2002.

VOHRA, A.; SATYANARAYANA, T. Phytases: Microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 23, p. 29-60, 2003.

WAGGLE, D. H.; DEYOE, C. W.; SMITH, F. W. Effect of nitrogen fertilization on the amino acid composition and distribution in sorghum grain. **Crop Science**, v. 7, p. 367-8, 1967.

WALL, J. S.; BLESSIN, C. W. Composition of sorghum plant and grain. In *Sorghum Production and Utilization*. J. S. WALL; W.M. ROSS, editors. AVI Publishing Co., Westport, Ct. 1970. Disponível em: <<http://ddr.nal.usda.gov/bitstream/10113/31010/1/CAIN719015001.pdf>>. Acesso em 07 de jul. de 2011.

WALZ, O. P.; PALLAUF, J. Microbial phytase combined with amino acid supplementation reduces P and N excretion of growing and finishing pigs without loss of performance. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, n. 7, p. 835-48, 2002.

WODZINSKI, R. J.; ULLAH, A. H. J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v. 42, p. 263-302, 1996.

- WYATT, C. J.; TRIANA-TEJAS, A. Soluble and insoluble Fe, Zn, Ca, and phytates in foods commonly consumed in northern Mexico. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2204-9, 1994.
- YAO, M.-Z.; ZHANG, Y.-H.; LU, W.-L.; HU, M.-Q.; WANG, W.; LIANG, A.-H. Phytases: crystal structures, protein engineering and potential biotechnological applications. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, p. 1-14, 2011.
- YOUSSEF, A. M. M.; MOHARRAM, Y. G.; MOUSTAFA, E. K.; BOILING, H.; E1-BAYA, A.; HARMUTH A. E. New Extruded Products from Sorghum. **Food Chemistry**, v. 37, p. 189-99, 1990.
- ZHANG, G. Q.; DONG, X. F.; WANG, Z. H.; ZHANG, Q.; WANG, H. X.; TONG, J. M. Purification, characterization, and cloning of a novel phytase with low pH optimum and strong proteolysis resistance from *Aspergillus ficuum* NTG-23. **Bioresource Technology**, v. 101 p. 4125-31, 2010.
- ZHOU, J. R.; ERDMAN, J. W. Phytic acid in health and disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 6, p. 495-508, 1995.

ANEXOS

| | |
|---|-----|
| Anexo A. Imagens dos extrudados de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima) | 139 |
| Anexo B. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e sua respectiva matéria-prima | 140 |
| Anexo C. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase Embrapa (Bloco 2) e sua respectiva matéria-prima | 142 |
| Anexo D. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo sem tratamento enzimático (controle) e sua respectiva matéria-prima | 144 |

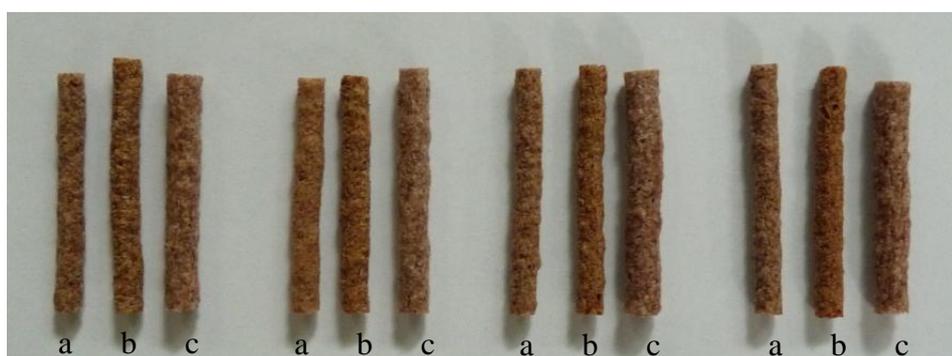
Anexo A. Imagens dos extrudados de sorgo tratado com enzimas comercial e Embrapa, além do controle (sem uso de enzima).



Extrudados de sorgo tratado com enzima comercial referentes aos tratamentos T1 a T12 do bloco 1.

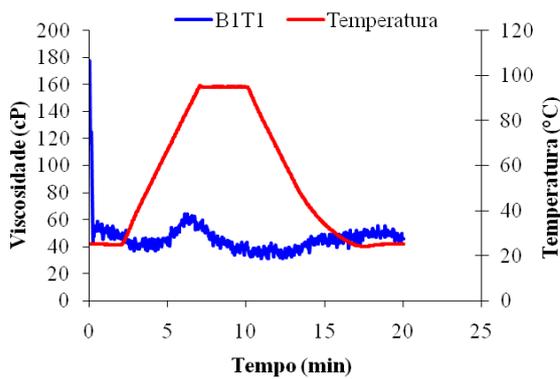


Extrudados de sorgo tratado com enzima Embrapa referentes aos tratamentos T1 a T12 do bloco 2.

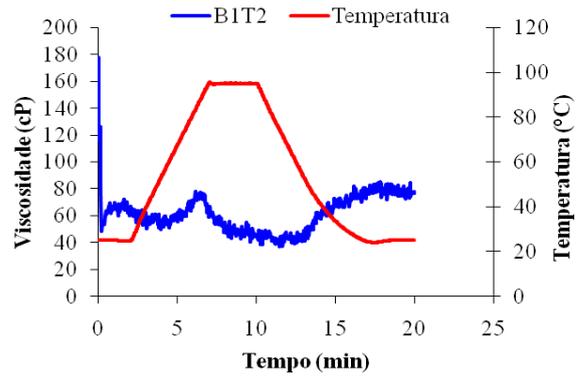


Extrudados de sorgo tratado com enzimas comercial (a) e Embrapa (b), além do controle (c) obtidos na condição de 140° C e 16% de umidade.

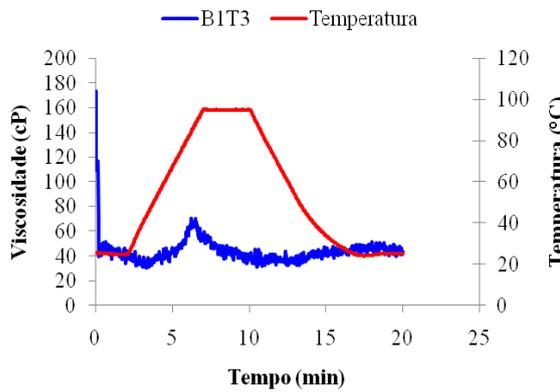
Anexo B. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase comercial (Bloco 1) e sua respectiva matéria-prima.



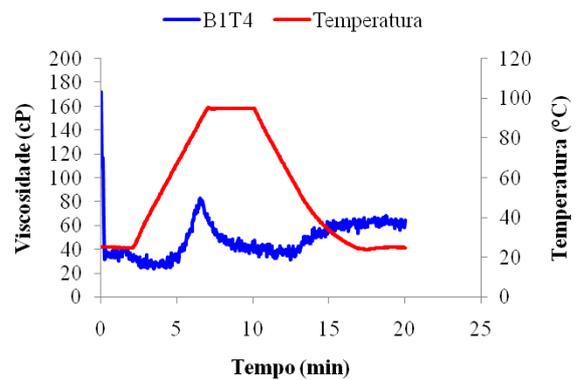
BIT1 (160°C, 14% umidade)



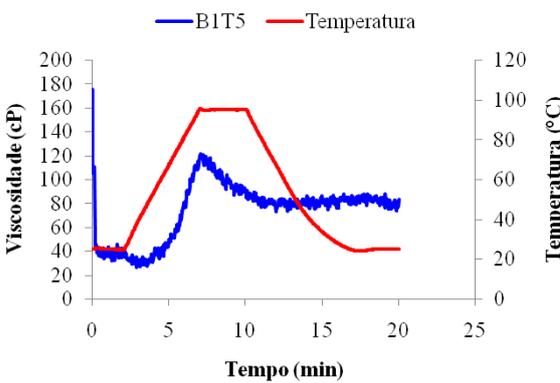
BIT2 (160°C, 18% umidade)



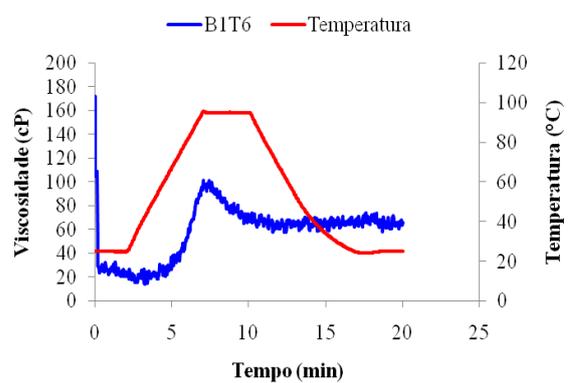
BIT3 (120°C, 14% umidade)



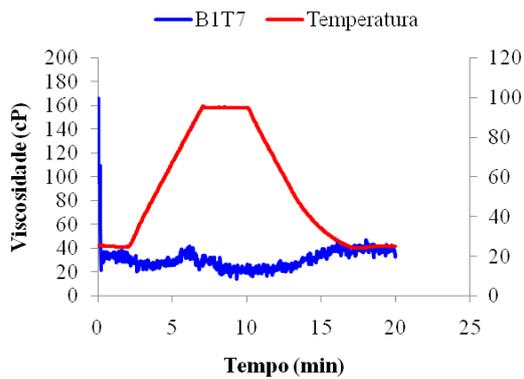
BIT4 (120°C, 18% umidade)



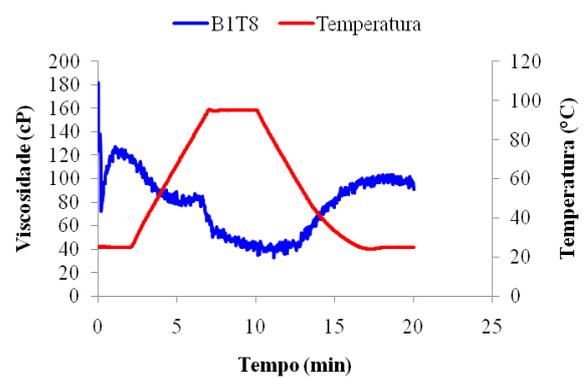
BIT5 (111,72°C, 16% umidade)



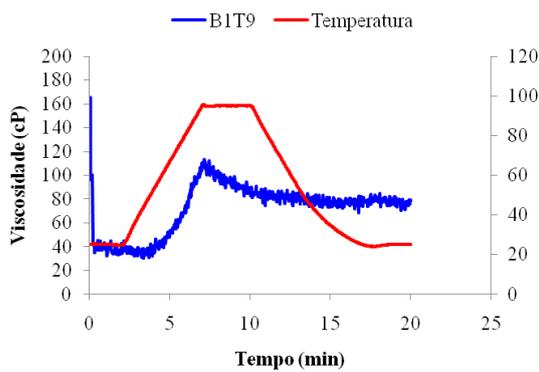
BIT6 (168,28°C, 16% umidade)



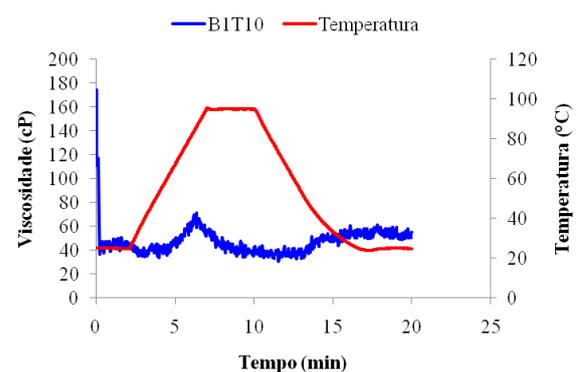
BIT7 (140°C, 13,17% umidade)



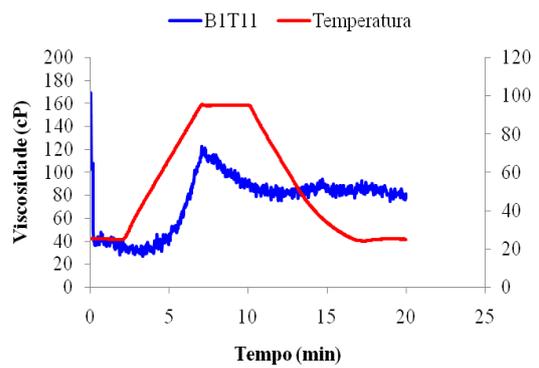
BIT8 (140°C, 18,83% umidade)



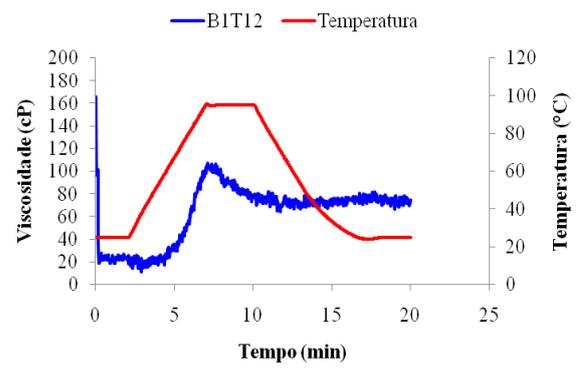
BIT9 (140°C, 16% umidade)



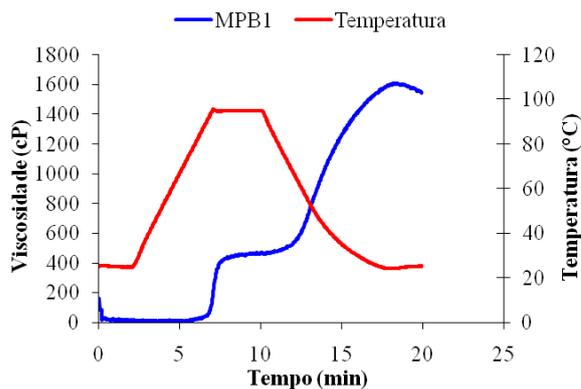
BIT10 (140°C, 16% umidade)



BIT11 (140°C, 16% umidade)

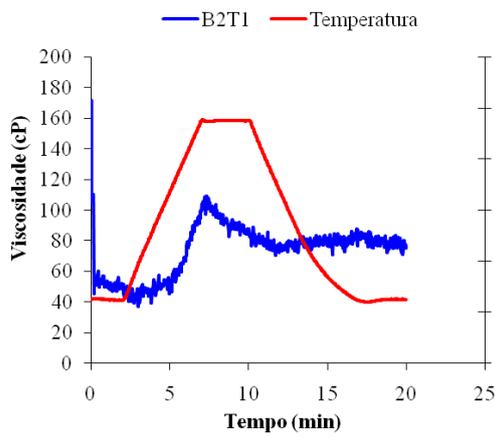


BIT12 (140°C, 16% umidade)

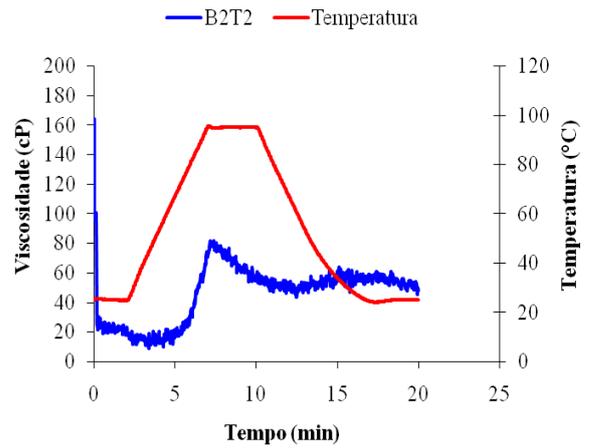


Matéria-prima (sorgo) tratada com fitase comercial

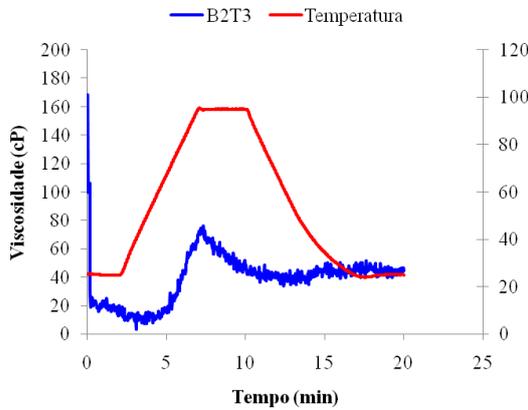
Anexo C. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo após tratamento enzimático usando fitase Embrapa (Bloco 2) e sua respectiva matéria-prima.



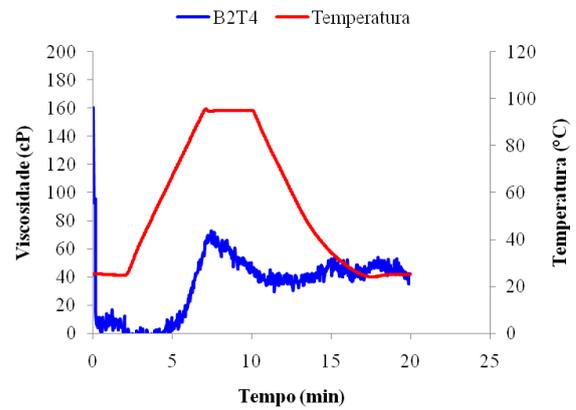
B2T1 (160°C, 14% umidade)



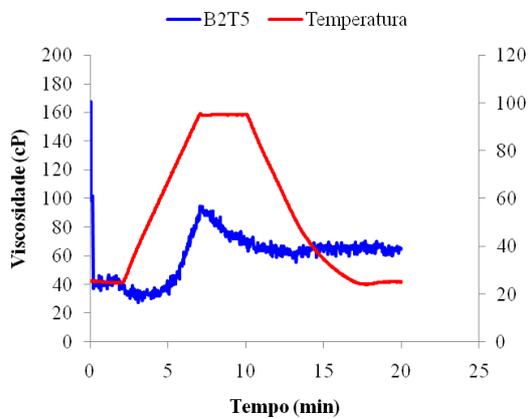
B2T2 (160°C, 18% umidade)



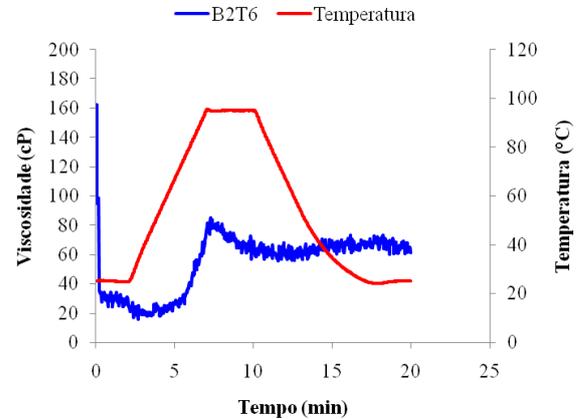
B2T3 (120°C, 14% umidade)



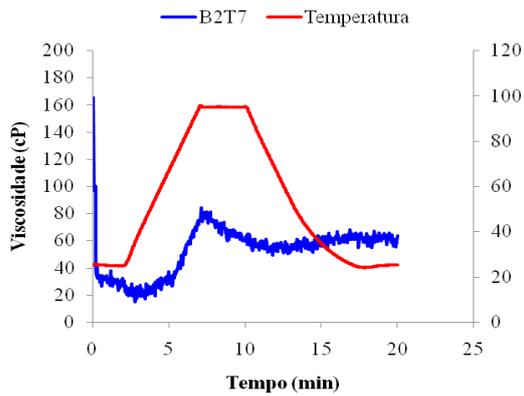
B2T4 (120°C, 18% umidade)



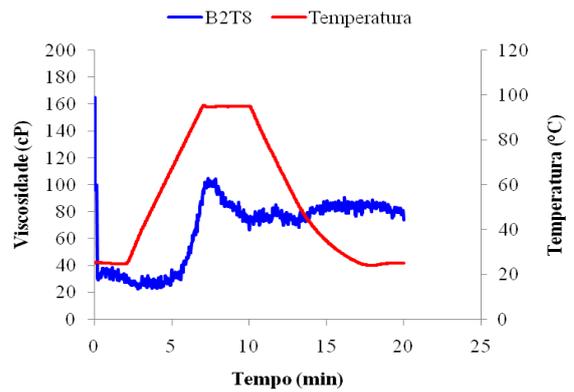
B2T5 (111,72°C, 16% umidade)



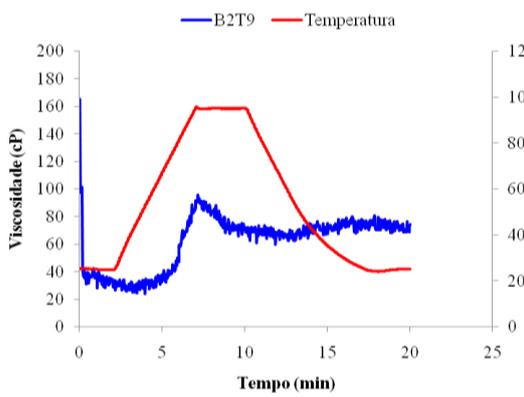
B2T6 (168,28°C, 16% umidade)



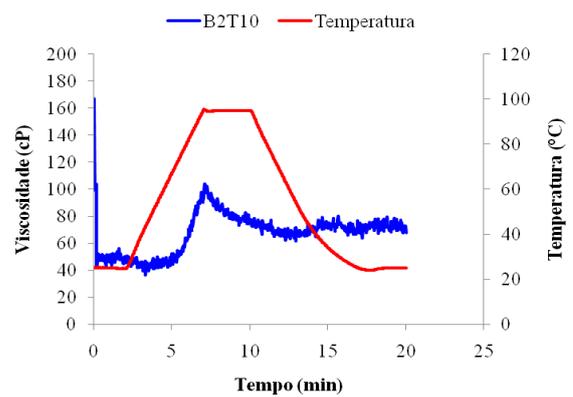
B2T7 (140°C, 13,17% umidade)



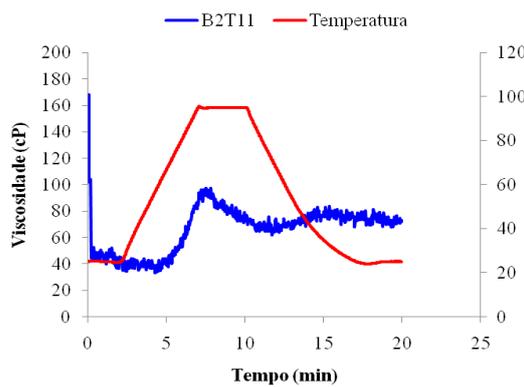
B2T8 (140°C, 18,83% umidade)



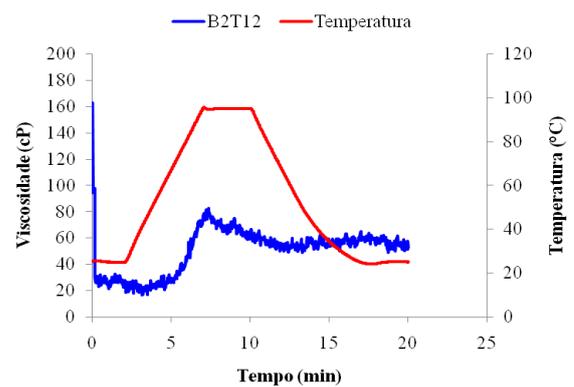
B2T9 (140°C, 16% umidade)



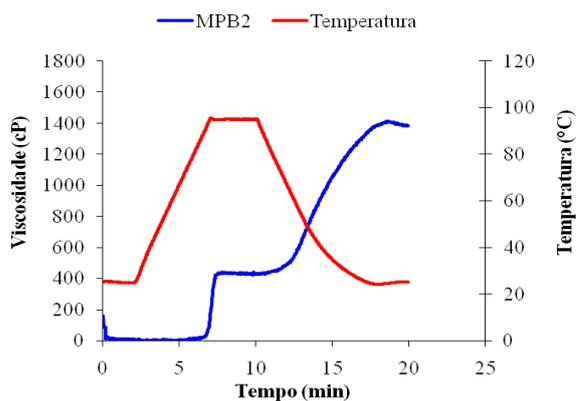
B2T10 (140°C, 16% umidade)



B2T11 (140°C, 16% umidade)

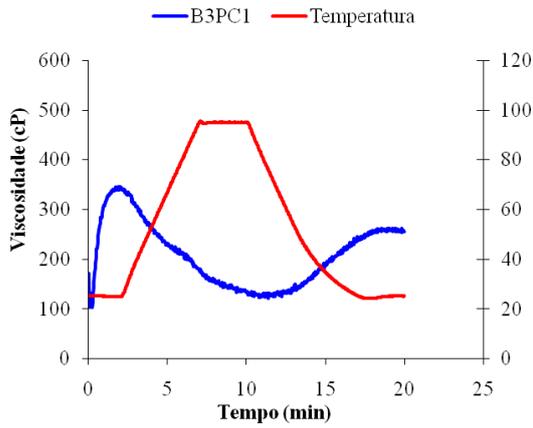


B2T12 (140°C, 16% umidade)

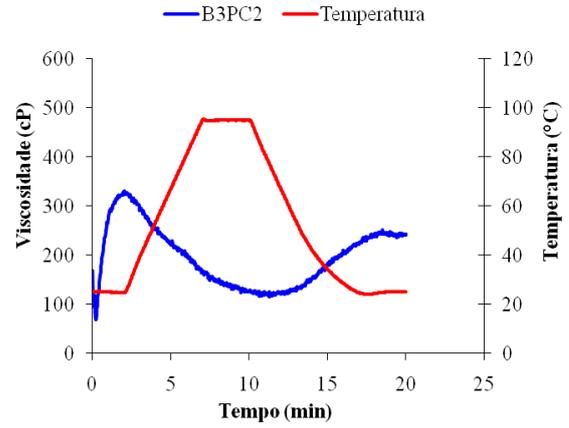


Matéria-prima (sorgo) tratada com fitase Embrapa

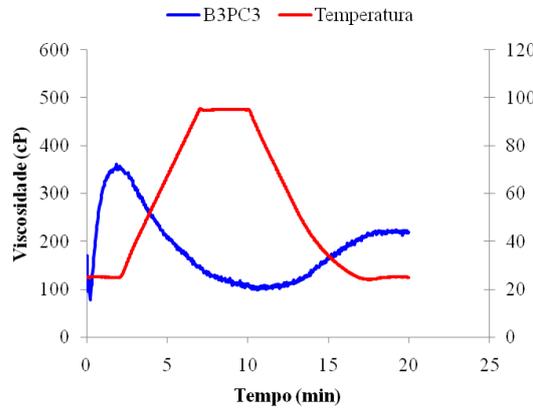
Anexo D. Curvas de viscosidade de pasta das farinhas extrudadas de sorgo sem tratamento enzimático (controle) e sua respectiva matéria-prima.



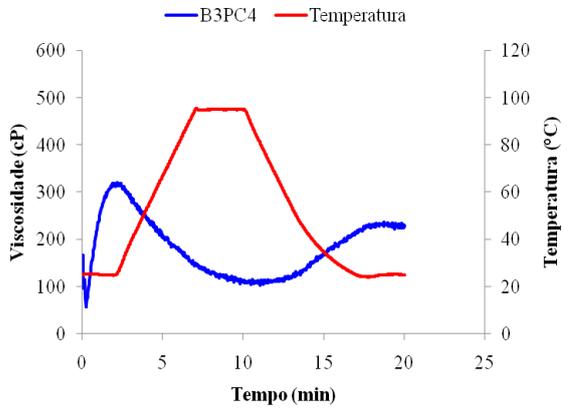
B3PC1 (140°C, 16% umidade)



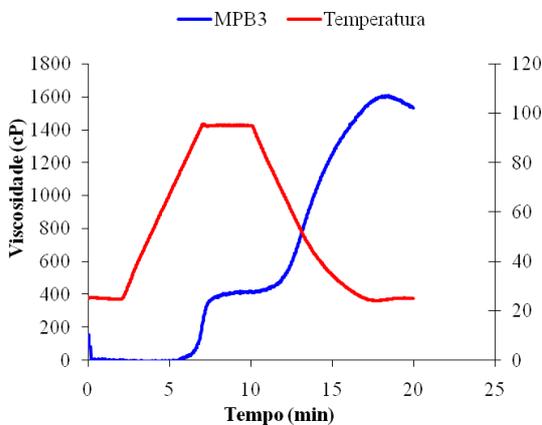
B3PC2 (140°C, 16% umidade)



B3PC3 (140°C, 16% umidade)



B3PC4 (140°C, 16% umidade)



Matéria-prima (sorgo) sem tratamento enzimático