

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

AURIANI PIRES NASCIMENTO

**METODOLOGIAS ANALÍTICAS ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE
CONTROLE DE QUALIDADE DA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE
ELATINA EM ARAGUAÍNA - TO**

ARAGUAÍNA-TO

2019

AURIANI PIRES NASCIMENTO

**METODOLOGIAS ANALÍTICAS ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE
CONTROLE DE QUALIDADE DA PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE
GELATINA EM ARAGUAÍNA - TO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
a Universidade Federal do Tocantins - UFT,
para obtenção do título de Licenciado em
Química.

Orientador: Prof. Dr. Joseilson Alves de Paiva.

ARAGUAÍNA-TO

2019


AURIANI PIRES NASCIMENTO

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade Federal do Tocantins – UFT como requisito parcial da avaliação da disciplina Estágio Supervisionado IV – TCC.

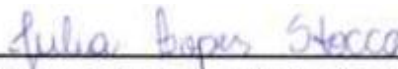
Orientador: Prof. Dr. Joseilson Alves de Paiva.

Aprovado em: 16/12/2019

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Joseilson Alves de Paiva (Orientador)



Farmacêutica Supervisora Júlia Lopes Stocco



Prof. Dr.ª Renata Ferreira Lins da Silva

ARAGUAÍNA-TO

2019

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por estar sempre comigo, ajudando-me a acreditar que posso ir além, dando-me forças nas dificuldades. A minha família, em especial a minha mãe Alba Sulene de Sousa Pires, que sempre me incentivou para que eu continuasse meus estudos, ao meu pai Antônio José do Nascimento Sousa que sempre nos deixou estudar, pois foi algo tirado dele, ao meu esposo Pedro Dias Fernandes que sempre me apoiou, ao meu irmão Arielton Pires Nascimento, que me deu umas dicas com os desenhos e a minha irmã Aylani Pires Nascimento, as minhas tias Aldaene de Sousa Pires, Adilene de Souza Pires Santos, Ana Helena Sousa Pires e Tatiane do Nascimento Sousa dos Reis, que me propuseram moradia quando vim do Assentamento Vitória Régia para estudar em Araguaína. Grato estou pelo meu orientador e professor Dr. Joseilson Alves de Paiva, que me ajudou na construção desse trabalho. Agradeço a Gelnex pelo apoio, em especial a minha chefe Júlia Lopes Stocco e o meu chefe Fernando Galdiole, que me ajudou muito para que eu conseguisse falar sobre esse tema. Agradeço a todos os professores da Universidade Federal do Tocantins, pois através deles, consegui chegar até aqui, pelos conhecimentos adquiridos e ao professor do Residência Pedagógica Maiko Sousa Feitosa do Colégio Jorge Amado, pois, aprendi muito com ele.

E por fim, agradeço a Universidade Federal do Tocantins Campus de Araguaína.

RESUMO

O colágeno é uma proteína obtida principalmente de origem animal, sua primeira indicação de uso, vem de aproximadamente 8.000 AC. No século XIII, o colágeno teve um papel importante na culinária da Inglaterra, durante o reinado de Henrique VIII (1491-1547). Este produto teve seu processo de obtenção registrado pela primeira vez por Denis Papin em 1682, onde descreveu a obtenção a partir do cozimento de ossos de animais. O colágeno é extraído de preferência da pele bovina e suína, pelo fato de ser mais acessível, porém há outras formas de obtenção como ossos e escamas de peixes entre outras. Para obter o colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina componente solúvel), pode-se passar por um dos dois tipos de pré-tratamento, na qual identificará o tipo da gelatina. Sendo um, pelo processo ácido que denominar a gelatina do tipo A e o processo alcalino ou básico denomina-se a gelatina do tipo B. A gelatina obtida do processo industrial é utilizada em diversas áreas como: alimentação, saúde (terapêutica e farmacêutica) e cosméticos. A gelatina por ser um produto bastante utilizado na nossa sociedade, passa por critérios de obtenção rígidos tanto na sua produção como no controle de qualidade do produto industrialmente obtido. Neste trabalho estão descritas as principais análises desenvolvidas pelo controle de qualidade da indústria de gelatina em Araguaína – TO. A análise do produto obtido pelo processo industrial é responsável por garantir a qualidade do produto final, portanto, a realização destes processos requer do(a) analista habilidade, concentração e responsabilidade no experimental executado. Fazem parte deste controle os processos de análise química, físico-químicos e microbiológico, que são realizadas após recepção da matéria prima, que passa por vários processos de tratamento do produto bruto até seu peneiramento em diversas malhas, a partir deste ponto analisa-se: condutividade, transmitância, cor, GI, granulometria, peróxidos, pH, turbidez, umidade, preparação de meios de cultura, coliformes totais, coliformes fecais e contagem total de bactérias, que estão descritas neste trabalho.

Palavras-chave: gelatina, controle de qualidade, produção industrial.

ABSTRACT

The Collagen is a protein obtained mainly from animal origin, its first indication of use was in approximately 8.000 BC. In century XIII, collagen played an important role in cuisine of England during Henrique VIII reign (1491-1547). This product had its obtaining first process registered by Dennis Papim in 1682, where it described obtaining from the cooking of animal bones. O colágeno é extraído preferencialmente da pele bovina e suína, por ser mais acessível, mas existem outros meios de obtenção, como ossos e escamas de peixe, por exemplo. For obtaining collagen partially hydrolyzed (gelatin), there are one or two ways of pretreatment in which the type of gelatin will be identified. the acidic process denominates gelatin type A and the alkaline or basic process denominates type B gelatin. The gelatin obtained from the industrial process is used in several areas such as: food, health (therapeutic and pharmaceutical) and cosmetics. Because gelatin is a widely used product in our society, it is subject to strict production criteria both in its production and in the quality control of the industrially obtained product. This work describes the main analyzes developed by the quality control of the gelatin industry in Araguaína - TO. The analysis of product obtained by industrial process is responsible for guaranteeing the quality the final product, therefore, the realization these processes requires from the analyst skill, concentration and responsibility in experimental performed. This control includes the chemical, physicochemical and microbiological analysis processes, performed after receiving the raw material, and treatment of the raw product until its sieving in several meshes, At this moment are analyzed: conductivity, transmittance, color, GI, particle size, peroxides, pH, turbidity, humidity, culture media preparation, total coliforms, fecal coliforms and total bacterial count, which are described in this paper.

Key words: gelatine, quality control, industry production.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura geral de um aminoácido

Figura 2 - Aminoácidos presentes na estrutura de proteína

Figura 3 - Ligações peptídicas em um tripeptídeo

Figura 4 - Estrutura primária

Figura 5 - Estrutura secundária

Figura 6 - Estrutura básica de uma gelatina

Figura 7 - Processo de Gelatina “A” e “B”.

Figura 8 - Frasco de 500 mL com 180 mL da solução buffer padrão, pH 7,0

Figura 9 - Frasco de 100 mL com 50 mL de caldo glutamato simples

Figura 10 - Tubo com 10 mL de caldo glutamato simples

Figura 11 - Frasco de 250 mL com 100 mL de caldo glutamato duplo

Figura 12 - Tubo com 10 mL de caldo E. coli

Figura 13 - Frasco de 250 mL com ágar PCA

Figura 14 - Amostra negativa e uma positiva para CT

Figura 15 - Amostra negativa e uma com suspeita de CF

Figura 16 - Amostra negativa e uma com suspeita de CF

Figura 17 - Amostra negativa e uma positiva para CF

Figura 18 - Formas de diluições

Figura 19 - Placa A não há presença de CTB e placa B a presença de CTB, com diluição 10^{-1} .

LISTA DE ABREVIACÕES

Agar PCA - Standard methods agar

CF - Coliforme fecal

CT - Coliforme total

CTB - Contagem total de bactéria

GI – Grau de insolubilidade

NTU - Unidade Nefelométrica de Turbidez

Pan C: pan cheia

Pan V: Pan vazia

PC: peneira cheia

PV: peneira vazia

UFC: Unidade formadora de colônia

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alterações de cor de um indicador universal de pH

Tabela 2: Planilha para cálculo das peneiras de amostra malha 8

Tabela 3: Planilha para cálculo das peneiras de amostra malha 20

Tabela 4: Planilha para cálculo das peneiras de amostra malha 30

Tabela 5: Resultado de análise de umidade

Tabela 6: Diluição de amostras de alimentos e bebidas

Tabela 7: Quantidade de amostra em cada nível de diluição por g ou mL

LISTA DE IMAGENS

Imagem 1: Equipamento de leitura da condutividade (condutivímetro)

Imagem 2: Cubeta usada para análise de transmitância e cor

Imagem 3: Equipamento de leitura de pH (pHmetro)

Imagem 4: Equipamento para leitura de turbidez (turbidímetro)

Imagem 5: Autoclave de esterilização de materiais e reagentes

Imagem 6: Placa de petri de vidro, utilizado para colonização de colônias

Sumário

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Histórico	14
1.2 Condutividade	17
1.3 Transmitância.....	18
1.4 cor	18
1.5 Misturas	18
1.5.1 Filtração a vácuo	19
1.6 Peneiramento	19
1.6.1 Granulometria	19
1.7 Peróxido	19
1.8 Reações de ácido-base.....	20
1.8.1 Corante Indicador de pH	21
1.8.2 Indicador Universal de pH	21
1.8.3 pHmetro	21
1.9 Turbidez	22
1.10 Umidade.....	22
1.11 Microbiologia	22
1.11.1 Meios de cultura	22
1.11.2 Análise de coliformes totais	23
1.11.3 Coliformes Fecais	23
1.11.4 Bactérias	23
2 OBJETIVOS.....	24
2.1 Objetivo geral.....	24
2.2 Objetivos específicos.....	24
3 METODOLOGIA	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
4.1 Granulometria.....	25
4.2 Condutividade.....	27
4.3 Transmitância e cor.....	28
4.4 pH (potencial hidrogeniônico)	29
4.5 Turbidez	29
4.6 Peróxido	30
4.7 Umidade.....	30

4.8 GI (Grau de Insolubilidade)	31
4.9 Preparação de meios de cultura	32
4.9.1 Buffer padrão	32
4.9.2 Glutamato simples	33
4.9.3 Glutamato duplo	34
5.9.4 E. coli	35
4.9.5 Standard methods agar (agar PCA)	36
4.10 Contagem de coliformes totais (CT).....	36
4.11 Contagem de coliformes fecais (CF).....	37
4.12 Contagem total de bactérias (CTB)	39
5 CONCLUSÃO	44
6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	45

1 INTRODUÇÃO

A palavra colágeno, vem do grego *kolla* (cola) e *Genno* (produção), que significa produção de cola (FERREIRA, 2013, p. 6). O colágeno é uma estrutura formada por volta de 27 isoformas de proteínas (PRESTES et al., 2012, p. 375). Na qual, as proteínas são macromoléculas orgânicos formado por aminoácidos (Figura 1 e 2), onde cada resíduo de aminoácido se une ao seu vizinho por meio de uma ligação covalente. (NELSON e COX, 2014, p. 76). A formação de sequência proteica é dada pela ligação peptídica (Figura 3). Com isso, a molécula de água (H₂O) é formada e liberada, (KREUZER e MASSEY, 2002, p. 103).

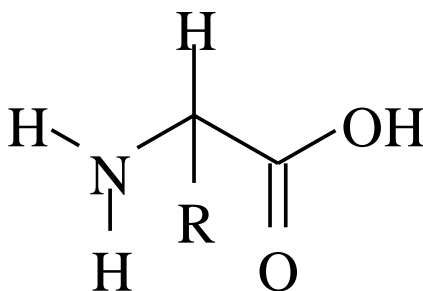
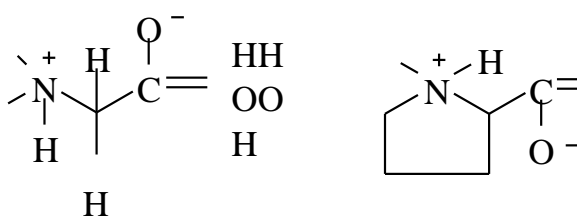


Figura 1: Estrutura geral de um aminoácido. Autor: NASCIMENTO, A. P.



Glicina (Gly)

Prolina (Pro)

Figura 2: Aminoácidos presentes na estrutura de proteína. Autor: NASCIMENTO, A. P.

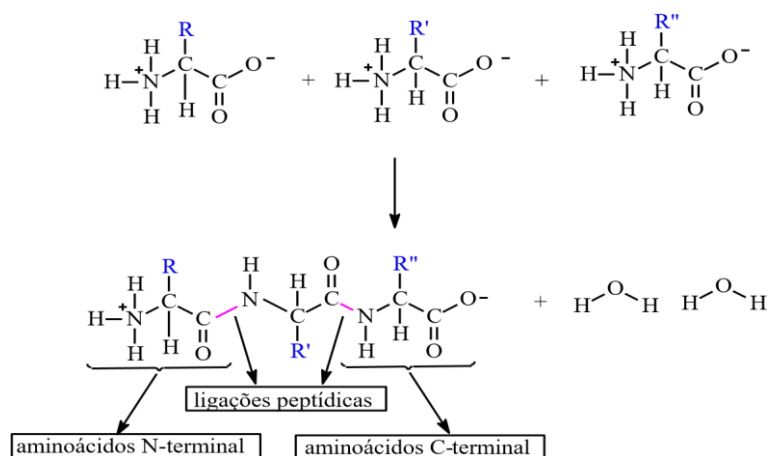


Figura 3: Ligações peptídicas em um tripeptídeo. Autor: NASCIMENTO, A. P.

A molécula do colágeno, pode ser entendida a partir das suas estruturas primárias (Figura 4), secundárias (Figura 5), terciárias e quaternárias (SCHRIEBER e GAREIS, 2007). A estrutura primária é encontrada em colágeno do tipo I, que é utilizado na fabricação de gelatina. Composta por aproximadamente 1014 aminoácidos em conjunto (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

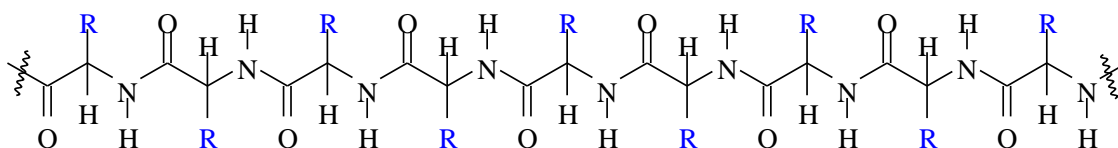


Figura 4: Estrutura primária. Autor: NASCIMENTO, A. P.

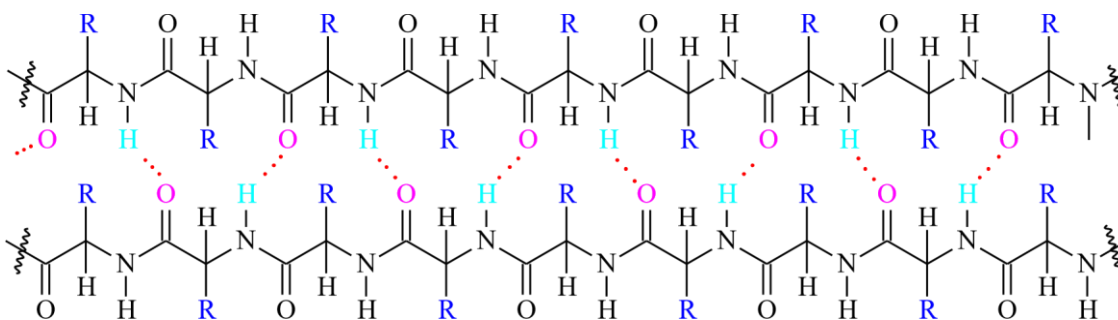


Figura 5: Estrutura secundária. Autor: NASCIMENTO, A. P.

A molécula do colágeno é longa, sua estrutura é rígida, onde há a formação de três cadeias polipeptídicas, denominadas como cadeia alfa, estas cadeias estão entrelaçadas, uma em volta da outra, na forma de uma corda de tripla hélice (FERREIRA, 2013, p. 6).

A gelatina é obtida através da hidrólise parcial do colágeno, onde há quebra da molécula em pequenos pedaços (GRAZIOLA, 2013, p. 3). Na Figura 6 está representada a estrutura básica da gelatina.

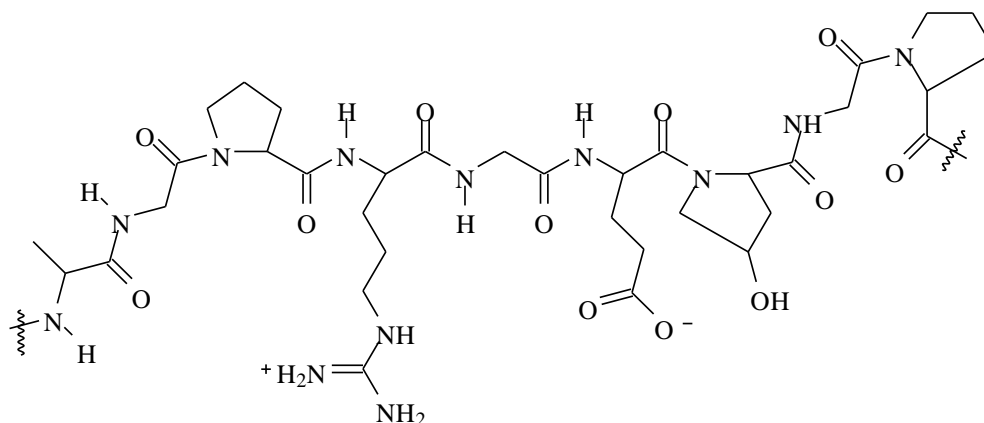


Figura 6: Estrutura básica de uma gelatina. Autor: NASCIMENTO, A. P.

1.1 Histórico

As primeiras indicações do uso do colágeno, vem de aproximadamente 8.000 AC, onde homens das cavernas na região do oriente médio, utilizavam colágeno proveniente de tecido animal como cola. No século XIII, o colágeno teve um papel importante na culinária da Inglaterra, durante o reinado de Henrique VIII (1491-1547), onde era servido pratos em conserva (geleia de pé de bezerro). Durante a guerra Napoleônica fim do século XVI e início do século XVII, o colágeno foi introduzido como alimentação para os soldados franceses, pois era utilizada como fonte de proteína devido à escassez de carne, pois a França tinha seus portos bloqueados pela marinha britânica. (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Dênis Papim em 1682 registrou pela primeira vez o processo de obtenção de uma massa gelatinosa a partir do cozimento de ossos de animais. Porém, só foi utilizado a palavra gelatina por volta do ano de 1700, iniciando assim a melhoria dos processos para

obtenção do colágeno, onde até hoje estes processos são estudados e melhorados (PALAZZO, 2008, p. 4).

No Brasil em 1965, foi fundada por Leiner a fábrica de gelatina em Cotia, no subúrbio de São Paulo, local escolhido por ser perto de matadouros o que facilitava adquirir a matéria prima. Ao mesmo tempo, outra fábrica foi construída no sul do Brasil na Estância Velha por Imbragel. Que mais tarde, foi adquirida por Leiner. (SCHRIEBER e GAREIS, 2007, p. 27). Em 2010, foi implantada a primeira fábrica de gelatina no Tocantins, na cidade de Araguaína. (RORATTO, 2014, p. 9). Essas fábricas seguem sequência analíticas já registradas em literatura.

A princípio o colágeno é extraído de preferência da pele bovina e suína, pelo fato de ser mais acessível, porém há outras formas de obtenção como ossos, escamas de peixes, entre outras (NISHIHORA, 2015, p. 26).

Para obter o colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina componente solúvel), pode-se passar por um dos dois tipos de pré-tratamento, na qual identificará o tipo da gelatina. Sendo um, pelo processo ácido que denomina a gelatina do tipo A e o processo alcalino ou básico denomina-se a gelatina do tipo B (NISHIHORA, 2015, p. 26).

Para definir qual tipo de pré-tratamento é mais adequado depende do teor de gordura da matéria prima. Portanto, o mais adequado para se utilizar quando a matéria prima possui uma grande quantidade de gordura, como em suínos e em pele de frango (ALMEIDA, 2016, p.43) é o tratamento ácido, pois evita que haja a saponificação, que ocorreria se o tratamento fosse alcalino (SCHRIEBER e GAREIS, 2007, p. 72).

Após estes processos o material obtido passa por um processo de neutralização e lavagem, o material obtido do processo básico (gelatina tipo B) passa por etapas iniciais diferenciadas do processo de obtenção da gelatina tipo A. A gelatina tipo A e B é submetida uma extração contínua ou batch em água quente e depois vai para a centrifugação (tipo B), em seguida passa pela primeira filtração (tipo A e B), logo após passa pela ultrafiltração, logo após passa por um deionizador, onde é retirada os sais (por meio de deionização), depois passa pela segunda filtração, em seguida evaporação, o produto obtido desta evaporação passa pela esterilização para eliminar os microrganismos existentes que resistiram aos processos expostos, seguidamente é gelificada, seca, moída, peneirada, homogeneizada e o produto final é expedido para o cliente. Conforme descrito na Figura 7.

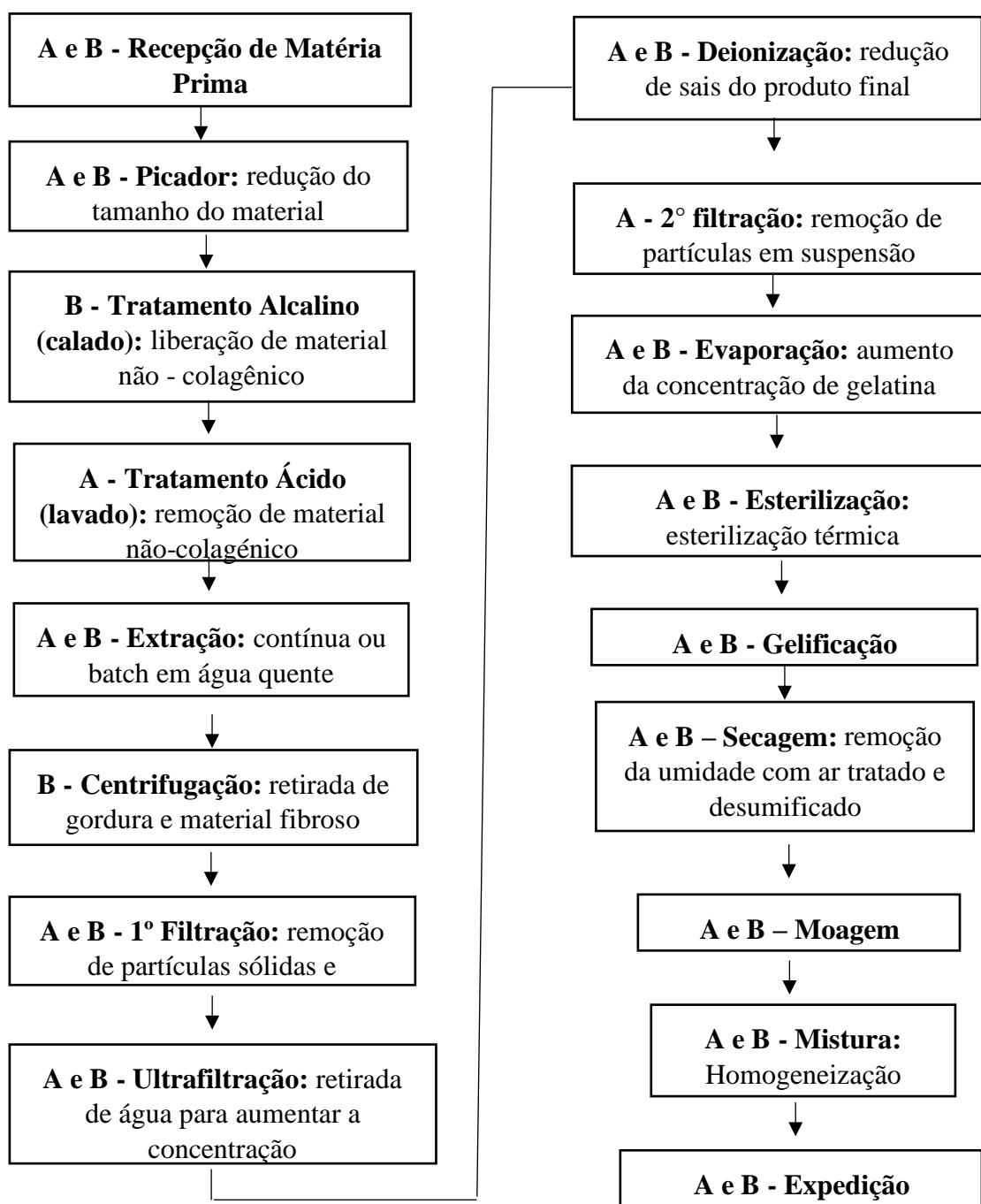


Figura 7: Processo de Gelatina “A” e “B”. Autor: NASCIMENTO, A. P.

A gelatina é muito utilizada nas indústrias alimentícias por ser um coloide hidrofílico excepcionalmente mutável, produzido em larga escala (matéria prima abundante) e por ser de baixo custo. Porém, o que faz com que ele seja mais procurado pelas indústrias é fato de possuir propriedades funcionais interessante (FERREIRA, 2013, p. 11).

No entanto, a gelatina não é usada somente na área da alimentação, mas também em outros setores como na saúde (terapêutica e farmacêutica), sendo que através deste é possível fazer selantes para próteses vasculares, cápsulas de remédios, compressas para usos cirúrgicos. E na parte de cosméticos, na forma hidrolisada, onde é inserido em produtos para a pele e cabelo. A importância do uso em produtos para a pele é a redução do efeito de alergênicos. Já para o uso capilar, serve como proteção da estrutura do cabelo, causado por produtos para descolorir ou colorir cabelos (GRASIOLA,2013, p.3).

A gelatina é um produto que aumenta a elasticidade, consistência e estabilidade de alimentos, é importante que ele apresente boas propriedades reológicas, com força do gel, viscosidade e ponto de fusão (FERREIRA, 2013, p. 9).

Os chamados aminoácidos essenciais para o organismo humano compreendem dez tipos, na qual estão inseridos em vários alimentos. Porém, só a gelatina possui nove destes aminoácidos, daí a importância nutritiva dele para o organismo. No entanto, o aminoácido de muita importância para o organismo do ser humano não estar inserido que é o triptofano, porém ele encontrado em outros alimentos que fazem parte da alimentação cotidiana (RIBEIRO, 2007, p. 7).

O material obtido destes processos citados passa por diversas análises para determinar sua qualidade, e assim garantir um produto de boa qualidade para o cliente, no caso, empresas diversas que utilizam este material para os diversos produtos que são produzidos e possuem gelatina na sua constituição. As análises realizadas são:

1.2 Condutividade

Teoria da condutividade - segundo a teoria de Debye-Hückel, tem como base em hipótese que os eletrólitos fortes se encontram todos dissociados em forma de íons. Com isso, verificou-se que há desvios de comportamento, que foi definido como interações elétricas entre os íons (MOORE, 1976, p. 410). A partir dessa teoria Debye-Hückel aplicou também a condutividade elétrica das soluções. Em seguida, Lars Onsager fez modificações na teoria da condutividade para cargas puntiformes. Em seguida, Fuoss e Onsager estendeu para esferas carregadas (MOORE, 1976, p.417).

Os íons quando estão sobre a influência de um campo elétrico, o seu movimento não ocorre em linha reta numa solução, no entanto, ocorre em uma série de etapas, no formato de ziguezagues (MOORE, 1976, p.417).

1.3 Transmitância

A absorção da luz se pela intensidade da luz, que após deixar a amostra, seu resultado será um valor menor do que o de origem, que pode ser na energia ou no comprimento de onda que a amostra absorveu. Com isso, a amostra que foi atravessada pela luz remanescente, sofreu uma transmissão, que é a passagem da radiação eletromagnética pela matéria, sem causar alteração em energia (HAGE; CARR, 2013, p. 414).

Desta forma, a soma da quantidade de luz absorvida com a quantidade de luz transmitida, será o valor total de luz que originalmente introduziu na amostra (HAGE; CARR, 2013, p. 414).

1.4 cor

De modo geral, para se determinar a cor de um complexo, vai depender do elemento em particular, do seu estado de oxidação e dos ligantes unidos ao metal. (BROWN et al., 2007, p. 900).

Para que, seja possível observar a cor de um composto, a luz absorvida por ele deve ser no visível. Onde a luz visível é compreendida, por meio de uma radiação eletromagnética, na qual, o comprimento de onda varia por volta de 400 até 700 nm. (BROWN et al., 2007, p. 900). Então, a cor de um objeto absorvente é dada pelos tipos de luz remanescente, que o objeto transmite ou reflete (HAGE; CARR, 2013, p. 414).

1.5 Misturas

É um sistema que possui duas ou mais substâncias (simples ou composta). A sua classificação ocorre desta maneira: sólido-líquido, sólido-gás, líquido-gás, entre os sólidos, entre os líquidos, entre os gases. Assim, é possível fazer a identificação dessa forma, quando apresentar somente uma fase é chamado de mistura homogênea e quando é possível identificar mais de uma fase é chamado de mistura heterogênea (BASTOS; AFONSO, 2015, p. 749).

Desta maneira, é possível fazer a separação das misturas, onde será utilizado dois métodos de separação, sendo um por filtração a vácuo (sólido-líquido) e o outro por peneiração (sólido-sólido).

1.5.1 Filtração a vácuo

A filtração é uma técnica utilizada na separação de sólidos suspensos, que são pequenas partículas sólidas suspensas no meio líquido (como coloides), sendo considerada, a técnica mais importante nas análises de gravimetria. A separação é feita por meio da introdução do líquido-sólido em uma superfície contendo o papel filtro (superfícies porosas), onde haverá a separação entre o líquido que atravessará a superfície porosa e o sólido que ficará retido nesse papel filtro (BASTOS; AFONSO, 2015, p. 750).

A velocidade da filtração vai depender do meio a ser filtrado, da temperatura que se encontra esta solução, do tipo de precipitado envolvido e da pressão que será aplicada sobre o sistema (BASTOS; AFONSO, 2015, p. 750). Sendo assim, algumas análises requerem que sejam utilizados métodos de filtragem mais rápidos, pois podem gelificar em temperatura ambiente como a gelatina, com isso é empregado técnicas como filtração a vácuo.

1.6 Peneiramento

O peneiramento se dar pela separação de um material que possui partículas com tamanhos diferentes, sendo que é necessário que haja no mínimo duas partículas diferentes. Podem ser utilizado método de peneiramento úmido, com a adição de água em meio ao material, para que os finos tenham facilidades de passar pela peneira. Com isso, pode se dizer que o material retido na peneira são partículas maiores que o tamanho da malha, e as que passam através da peneira são as partículas menores que o tamanho da malha. Outro método usado é o de frações granulométrica, um peneiramento a seco muito comum em indústrias (CARRISSO; CORREIRA, 2004, p. 2017).

1.6.1 Granulometria

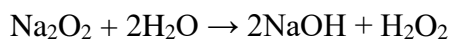
São usadas uma série de peneiras na determinação do tamanho dos grãos, uma em cima da outra, mantendo uma relação constante para que não haja desperdício de amostra. As peneiras são telas formada por fios metálico, que estão traçados em duas direções ortogonais, constituindo entre si malhas ou aberturas com tamanhos determinados, na forma de quadrado ou de retângulo (CARRISSO; CORREIRA, 2004, p. 2017, 220).

1.7 Peróxido

Em geral, os peróxidos são compostos pelo íon $[-O-O-]^{2-}$. Seus elétrons estão todos emparelhados, por isso, são chamados de diamagnéticos e são responsáveis por causar

oxidação, ou seja, agentes oxidantes. Por reagir com água e ácido, podem ser considerados como sais do ácido dibásico H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) (LEE, 2000, p.

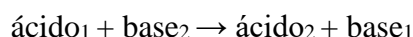
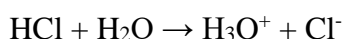
147). A formação, se dar pela reação a seguir:



O peróxido de sódio (Na_2O_2) possui cor amarelo pálido, sendo importante para a indústria, pois é utilizado como alvejante de matérias como polpa de madeira, papel e artigos, algodão e linho (LEE, 2000, p. 147).

1.8 Reações de ácido-base

Segundo Bronsted-Lowry ácidos são espécie química com a capacidade de doar próton e a base tem capacidade de receber prótons (KOTZ, et al. 2009, p. 704). Para Bronsted-Lowry, esse processo da reação ácido-base é dado pela competição por prótons entre as bases. Sendo assim, quando o ácido clorídrico (HCl) estar em meio aquoso, ele doa um próton para a água (H_2O), formando um ácido íon hidrônio (H_3O^+) e uma base íon de cloro (Cl^-). Descrito no processo abaixo (RUSSEL, 1994, p. 566-567):



Com isso, pode ser observado que o ácido transfere um próton para a base, formando ao mesmo tempo base conjugada e ácido conjugado. Desta forma, o par ácidobase conjugado, é mostrado na equação como sendo ácido₁ (HCl) e base₁ (Cl^-). Ao mesmo tempo, o outro par também é formado como base₂ (H_2O) e ácido₂ (H_3O^+) (RUSSEL, 1994, p. 567).

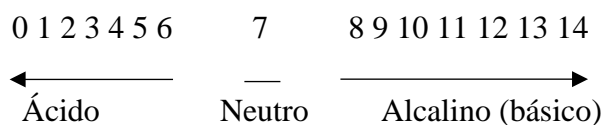
Contanto, pode se afirmar que um ácido em meio aquoso, aumenta a concentração de íons hidrônio (H_3O^+) e a base em meio aquoso, aumenta a concentração íon hidróxido (OH^-) (KOTZ et al., 2010, p. 158-159).

Então para medir o pH (potencial hidrogeniônico) de uma solução é dada pela seguinte equação:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

Com isso, foi montado uma escala de pH, onde os ácidos compreendem uma escala de 1 a 6, sendo 7 é neutro e as base compreende uma escala de 8 a 14 (KOTZ et al., 2010, p. 181). Da seguinte forma:

Escala de pH



Através dessa faixa de pH é possível identificar se um meio é ácido ou básico. Desta forma, foi criado métodos de leitura de pH. Onde pode ser identificado, através de corantes indicadores de pH, fitas que mudam de cor quando são inseridas numa solução identificando a escala de pH e os pHmetros que faz a leitura em números.

1.8.1 Corante Indicador de pH

Há diversas substâncias que em solução tem a capacidade de mudar de cor devido a mudança de pH. Um exemplo pode ser observado no dia-a-dia é o repolho roxo que o seu suco é roxo-azulado e quando é inserido um ácido a cor dele vai mudando para o vermelho e com a adição de uma base a cor vai mudando para o amarelo. Outro exemplo, também podem ser notados através da mudança de cor é o de chás, que ao inserir suco de limão muda a sua coloração (KOTZ et al., 2010, p. 158-159).

1.8.2 Indicador Universal de pH

Para medir o pH é utilizado indicadores, na qual muitos dele são impregnados em papel-filtro ou outro material, de modo que pode cobrir toda a faixa de pH. Ao imergir em uma solução, há uma mudança de cor de acordo com a escala apresentada na tabela 2 (GOMES e OLIVEIRA, p. 156-157).

Tabela 1: Alterações de cor de um indicador universal de pH.

pH	2	4	6	8	10	12
Cor	Vermelho	Laranja	Amarelo	Verde	Azul	Púrpura

1.8.3 pHmetro

Outro método de se identificar o pH de uma solução de forma mais preciso é através do pHmetro, onde o aparelho geralmente é construído a partir de um eletrodo de vidro, que é uma fina camada de vidro especial (bulbo), sensível aos íons H^+ , que estar situada na extremidade de um tubo de vidro resistente (GOMES e OLIVEIRA, p. 156-157).

1.9 Turbidez

A turbidez é dada pelo tamanho da dificuldade que um feixe luz venha ter ao atravessar uma amostra. Essa dificuldade, é ligada a presença de sólidos em suspensão, que pode ser silte, argila, coloides, matérias orgânicas entre outros. A medida de turbidez é feita através de um turbidímetro, onde há o espalhamento de um feixe de luz de mesma intensidade, que passa pela suspensão padrão. Por isso, que quanto maior for a turbidez, maior será o espalhamento. Para expressar os valores, deve ser utilizado a Unidade Nefelométrica de Turbidez (UNT) (COOREIA, 2009, p.2).

1.10 Umidade

A umidade é o teor de água presente em uma amostra. Analisar umidade é muito importante, pois se estiver fora das recomendações técnicas pode resultar em grandes perdas na estabilidade química, na deterioração microbiológica, nas alterações fisiológicas (brotação) e na qualidade em geral dos alimentos. Para se analisar a umidade, usa o método baseado na secagem da amostra, na qual a perda de peso, refere-se a perda de umidade (GOMES e OLIVEIRA, p. 204).

1.11 Microbiologia

A microbiologia é a ciência que estuda os microrganismos, a forma que eles funcionam, em especial o estudo das bactérias, que estão inseridas em um grupo enorme de células bem pequenas, que por sua vez, tem grande importância básica e prática (MADIGAN et al., 2016, p. 2).

1.11.1 Meios de cultura

É uma solução rica em nutrientes necessários para que os microrganismos possam se desenvolver. Sua importância é devido a necessidade do estudo em laboratórios de diferentes microrganismos, na qual deve ser bem detalhado, por isso é essencial que o preparo dos meios de cultura seja feito com muita atenção (MADIGAN et al., 2016, p. 76), obedecendo os requisitos necessários de cada embalagem, onde especifica a quantidade a ser utilizada em cada 1 litro de água e o pH devido, pois cada microrganismo possui uma faixa mínima e máxima de pH para o seu crescimento (GOMES e OLIVEIRA, p. 153).

1.11.2 Análise de coliformes totais

Uma das famílias bacterianas mais importante é a família *Enterobacteriaceae*. Pois, abrangem uma série de patógenos que são importantes para o homem e para os animais, sendo pertencente a ela o ser vivo mais comum (*E. Coli* K12). Nos seres humanos este patógenos podem levar a infecções hospitalares, também estar associada a infecção intestinal em vários países. Nos animais é importante destacar, pois o problema não estar somente associado as perdas, mas também pelo fato de que os animais possuem um vasto reservatório de patógenos humanos (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005, p. 269). Com a capacidade de fermentar a lactose, também é possível observar a produção de gás, porém deve ter as condições necessárias para identificar se a presença ou não de coliformes totais na amostra, sendo incubadas por 48 horas numa estufa com temperatura adequada. O seu formato é de bacilos, são bactérias gram-negativas, que não forma esporos. Quando há presença de coliformes totais em uma amostra não quer dizer que a presença de coliformes fecais (FRANCO; LANDGRAF, 2008, p. 28). Por isso, são feitas análises diferentes para detectar quais tipos de coliformes essa amostra poderá apresentar.

1.11.3 Coliformes Fecais

As bactérias pertencentes ao grupo dos coliforme fecais pertence ao mesmo grupo dos coliformes totais, ou seja, eles têm capacidade de fermentar a lactose e produzir gás em temperaturas adequadas durante 48 horas. Com essa análise, é possível se ter informações das condições higiênicas do produto e a possível presença de outras (FRANCO; LANDGRAF, 2008, p. 28) espécies do mesmo grupo dos coliformes fecais, dos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. Onde a principal delas é a *Echerichia coli*, que indicará a possível existência de patógenos entéricos, em meio as bactérias de coliformes (FORSYTHE, 2013, p. 206-207).

1.11.4 Bactérias

Ao comparar a quantidade existente de bactérias de vida livre, são poucas que causam doenças. Sendo que a grande maioria das bactérias são bem conhecidas e estudadas, no entanto, com o passar do tempo há descobrimento de novos patógenos que causam infecções, sendo desconhecido no momento (MIMS et al., 1999, p.24) porém, segue em estudo.

A fabricação de gelatina no estado do Tocantins iniciou-se em 2010 na cidade de

Araguaína pela indústria da empresa Gelnex, este processo envolve vários funcionários, destaca-se a presença de alunos do curso de química, que estagiam ou são parte do grupo permanente de funcionários. Os processos de produção e análise envolvidos na produção de gelatina passaram ser necessário à sua compreensão.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Discutir os vários processos existentes no controle de qualidade na produção de gelatina desenvolvido por indústria na cidade de Araguaína no estado do Tocantins, tendo como ênfase os processos que envolvem as análises químicas, físico-químicas e microbiológicas. Observando seus processos e similaridades com os descritos na literatura.

2.2 Objetivos específicos

- Utilizar da base teórica para descrever os processos envolvidos no controle de qualidade na produção de Gelatina em indústria local.
- Descrever os processos físico-químicos de análise como turbidez, transmitância, cor, condutividade, pH, peróxido, GI, granulometria e umidade.
- Descrever processos químicos de análise como: preparação de meios de cultura.
- Descrever processos microbiológicos como: coliformes totais, coliformes fecais e contagem total de bactérias.

3 METODOLOGIA

As coletas de dados foram feitas no laboratório da Gelnex – Araguaína - Tocantins, no período de agosto a outubro de 2019. Onde foram observados e registrados os processos metodológicos de análises, que envolvem o processo de controle de qualidade desde a matéria prima obtida até o produto industrializado. Para isto acompanhou-se os processos principalmente da área de análise química, físico-química e microbiológica que compreendem o processo de controle de qualidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A empresa GELNEX instalada na cidade de Araguaína no Tocantins desde

2010, é responsável pela produção total de gelatina no estado, está localizado no setor Novo Horizonte. A empresa produz colágeno e gelatina que são distribuídos para o mercado interno brasileiro e para o mercado internacional. A empresa contribui diretamente para o desenvolvimento do estado, pois é responsável pela contratação da mão de obra local, pratica ação social as localidades próximas de suas instalações.

A gelatina obtida do processo industrial é uma matéria com características sólidas, constituídas principalmente por grânulos grandes (Chamados de macarrão), estes grânulos são triturados e passam pelo primeiro processo de granulometria, onde são divididos, malhas de 8, 20 e 30 (quanto maior a malha mais fina será a gelatina) sendo a malha oito uma gelatina formada por grãos maiores, e da 20 e 30 obtém-se uma gelatina em partículas menores conforme a malha.

Do processo de granulometria separe-se por produto obtido aproximadamente 1 Kg de amostra de cada malha (classificado como lote). Daí gera-se as amostras de gelatinas para serem analisadas. As amostras de gelatinas são separadas pelo o moinho na forma de amostragem, de cada amostra coletada deve ser separada duas amostras da mesma, sendo uma para análises físico-química e outra microbiológica. Em seguida, são levadas para o laboratório (controle de qualidade), que analisara as amostras de acordo com os seguintes procedimentos:

4.1 Granulometria

A amostra obtida passa por uma nova análise granulométrica, onde é determinado a composição em tamanho de partículas da amostra, para isto utiliza-se de várias malhas diferentes, de acordo com a característica da amostra. As Tabelas 2, 3, e 4, descrevem as malhas utilizadas conforme a amostra e seu processo de classificação por malha.

Antes de começar a análise deve-se pesar todas as peneiras e organizá-las por tamanho crescente de malhas, tendo como peneira inferior a pan (depósito na mesma forma das peneiras sem malhas onde são obtidos as partículas menores do processo de granulometria), então, inicia-se a manipulação das amostras, pesa-se 100g da amostra em um béquer de 100mL, transfere-se a amostra para a peneira superior fecha-se com a tampa, então inicia-se o processo de separação por tamanho de partícula que compõe a amostra obtida. Este processo e realizado por um agitador eletromagnético, por 5 min. Ao término da agitação deve-se pesar novamente as peneiras com o material contido, assim determina-se a quantidade de amostra que ficou retida em cada malha para se determinar

a composição granulométrica da amostra. Em seguida faz-se o cálculo para as amostras, considerando as condições de PC – peneira, cheia PV – peneira vazia, Pan C – pan cheia, Pan V – Pan vazia.

Tabela 2: Planilha para cálculo das peneiras de amostra malha 8. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Lote:				
Malha	Peneira vazia (PV)	Peneira cheia (PC)	cheia – Vazia	Resultado (X)
06	1PV	1PC	1PC – 1PV	X
08	2PV	2PC	2PC – 2PV	X
20	3PV	3PC	100 – Soma X	
40	4PV	4PC	4PC – 4PV	X
Pan	Pan V	Pan C	Pan C – Pan V	X
Quantidade Total				100

Tabela 3: Planilha para cálculo das peneiras de amostra malha 20. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Lote:				
Malha	Peneira vazia (PV)	Peneira cheia (PC)	cheia – Vazia	Resultado (X)
20	1PV	1PC	1PC – 1PV	X
40	2PV	2PC	100 – Soma X	
60	3PV	3PC	3PC – 3PV	X
Pan	Pan V	Pan C	Pan C – Pan V	X
Quantidade Total				100

Tabela 4: Planilha para cálculo das peneiras de amostra malha 30. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Lote:				
Malha	Peneira vazia (PV)	Peneira cheia (PC)	cheia – Vazia	Resultado (X)
30	1PV	1PC	1PC – 1PV	X
60	2PV	2PC	100 – Soma X	
100	3PV	3PC	3PC – 3PV	X
Pan	Pan V	Pan C	Pan C – Pan V	X
Quantidade Total				100

4.2 Condutividade

A análise de condutividade é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente pesa-se 1g de gelatina em frasco de vidro, adiciona-se 100mL de água, deixa-se intumescer por uma hora, depois leva-se ao banho-maria por 30 minutos sob uma temperatura de 65°C, e obtém-se uma suspensão, que é determinada sua condutividade em condutímetro anteriormente calibrado com uma solução padrão de 147 $\mu\text{s}/\text{cm}$. Deve-se ressaltar que as amostras analisadas por condutividade são comparadas a uma suspensão padrão utilizada como branco (suspensão de gelatina padrão que está com os padrões condutivimétricos dentro das especificações para a produção de gelatina).



Imagem 1: Equipamento de leitura da condutividade (condutímetro). Autor: NASCIMENTO, A. P.

A suspensão branca padrão possui uma condutividade de 195 - 211 $\mu\text{s}/\text{cm}$, a partir deste padrão determina-se a condutividade das amostras obtidas do processo de peneiração.

4.3 Transmitância e cor

A análise de transmitância e cor é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente pesa-se 7,5g de amostra em um frasco de vidro, devidamente identificado, logo após adiciona-se 105mL de água purificada, em seguida deixar intumescer por uma hora, depois leva-se ao banho-maria por 30 minutos sob uma temperatura de 65°C, e obtém-se uma suspensão. Daí transfere-se para cubetas (Imagem 2) para gelificar (estado “sólido” da gelatina), dando sequência com a análise, fazer a leitura em um espectrofotômetro, na escala de 450nm para a leitura da cor e escala de 620nm para leitura da transmitância. Deve-se ressaltar que as amostras analisadas por transmitância e cor são comparadas a uma suspensão padrão utilizada como branco (suspensão de gelatina padrão que está com os padrões de pH dentro das especificações para a produção de gelatina).



Imagem 2: Cubeta usada para análise de transmitância e cor. Autor: NASCIMENTO, A. P.

A suspensão branca padrão possui uma transmitância 95,9 – 97,7 e cor 87,0 – 88,8 a partir destes padrões determinam-se a transmitância e a cor das amostras obtidas do processo de peneiração.

4.4 pH (potencial hidrogeniônico)

A análise de pH é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente pesa-se 7,5g de amostra em um frasco de vidro, devidamente identificado, logo após adiciona-se 105mL de água purificada, em seguida deixar intumescer por uma hora, depois leva-se ao banho-maria por 30 minutos sob uma temperatura de 65°C, e obtém-se uma suspensão, que é determinado seu pH em um pHmetro (Imagem 3), anteriormente calibrado com soluções padrão de pH 4,0 e 6,90.

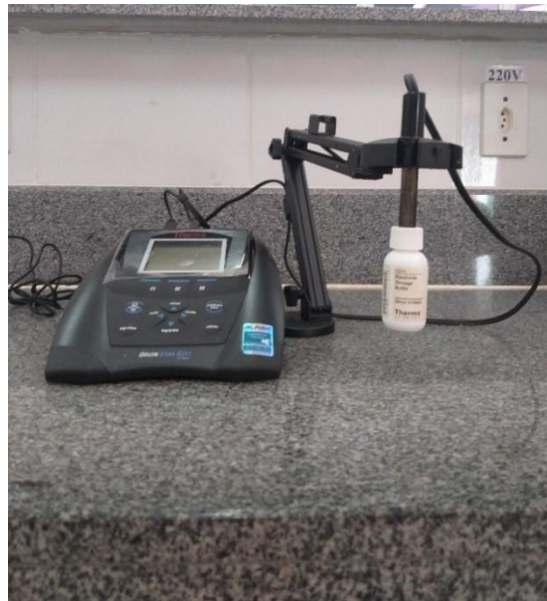


Imagem 3: Equipamento de leitura de pH (pHmetro). Autor: NASCIMENTO, A. P.

A suspensão branca padrão possui um pH de 5,29 – 5,47, a partir deste padrão determina-se o pH das amostras obtidas do processo de peneiração.

4.5 Turbidez

As análises de turbidez são realizadas para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente pesa-se 7,5g de amostra em um frasco de vidro, devidamente identificado, logo após adiciona-se 105mL de água purificada, em seguida deixa-se intumescer por uma hora, depois leva-se ao banho-maria por 30 minutos sob uma temperatura de 65°C, e obtém-se uma suspensão, na qual é determinada a turbidez em um turbidímetro (Imagem 4).



Imagem 4: Equipamento para leitura de turbidez (turbidímetro). Autor: NASCIMENTO, A. P.

A suspensão branca padrão possui uma turbidez de 12,2 – 15,2 NTU, a partir deste padrão determina-se a turbidez das amostras obtidas do processo de peneiração.

4.6 Peróxido

A análise de peróxido é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente pesa-se 0,5g de glicose e 20g de amostra em um frasco de vidro, devidamente identificado, logo após adiciona-se 79,5mL de água purificada, em seguida deixar intumescer por 30 minutos, depois leva-se ao banho-maria por 20 minutos sob uma temperatura de 60°C, e obtém-se uma suspensão, que é determinada a quantidade de peróxido em uma fita que muda de cor de acordo com o grau de peróxido existente na amostra.

4.7 Umidade

A análise de umidade é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8 e 20 ou 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente leva-se as cápsulas á estufa a 105°C para atingirem a tara de pesagem, este processo dura no mínimo

por duas horas. Em seguida, põe-se as em um dessecador para atingir temperatura ambiente, logo após pesa-se as cápsulas. Da amostra seca pesa-se 5g da gelatina e põe em uma estufa por 17 horas. A determinação de umidade é realizada a partir das coletas de dados conforme Tabela 5, então faz-se o seguinte cálculo:

$$\frac{M1 - M2}{M} \times 100$$

Onde:

M: Peso em gramas da amostra teste.

M1: Peso em gramas da amostra com peso da cápsula de alumínio antes da secagem.

M2: Peso em gramas da amostra com o peso da cápsula de alumínio depois da secagem.

Tabela 5: Resultado de análise de umidade. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Lote:
Peso da cápsula vazia:
Peso da amostra:
Peso da cápsula com amostra depois da secagem.
Umidade :

4.8 GI (Grau de Insolubilidade)

A análise de GI é feita para captar alguma contaminação física como cabelo, caco de vidro, parafusos entre outras.

A análise de GI é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente pesa-se 100g de amostra em um béquer de 1000mL, devidamente identificado, logo após completa os 1000mL de água filtrada, em seguida deixar intumescer por uma hora, depois leva-se ao banho-maria por uma hora sob uma temperatura de 65°C, e obtém-se uma suspensão. Posteriormente leva-se a suspensão para filtração a vácuo em sistema de filtração devidamente montado (kitassato, funil com uma peneira, papel de filtro e copo), ao término da filtração, retira-se o papel de filtro e verifica-se, há alguma contaminação possível de ser notada antes do

processo de secagem, então serão levados para uma estufa. Após a secagem é feita outra verificação se há pequenos fragmentos como por exemplo terra, pontos pretos, que talvez não seja possível fazer a identificação com o papel do GI molhado.

Ao secar o GI, ele é colado com papel contact transparente, e observa-se se a qualidade do papel para que não venha comprometer a análise, observa-se a presença e partículas ou manchas que possam interferir na análise. O papel contact é sobreposto ao papel de filtro após secagem e novamente é analisado a superfície de papel para se observar qualquer alteração, dar-se então notas que variam entre 1 a 10, sendo 10 a pior nota.

4.9 Preparação de meios de cultura

Para as análises microbiológicas de alimentos, utiliza-se a preparação de meios de cultura como caldos e ágar. Neles devem-se ter nutrientes adequados e suprir a necessidade fisiológica do organismo. Com isso, os meios de culturas devem-se ter proteínas consideráveis, carboidratos, minerais, pH adequados e devem ser incubados em condições favoráveis de temperaturas e oxigênio, por um devido tempo (FORSYTHE, 2013, p. 303).

Nas análises de coliformes totais usa-se solução tampão pH = 7 e glutamato simples pH = 6,7, para coliformes fecais usa-se solução tampão pH = 7 e glutamato duplo pH = 6,7 e contagem total de bactérias usa-se solução tampão pH = 7 e ágar PCA pH = 7. Para confirmatório de coliformes fecais, usa-se glutamato simples de 10mL e E. Coli de 10mL, com pH = 6,9.

O preparo dos meios de cultura deve ser da seguinte forma:

4.9.1 Buffer padrão

Inicialmente pesa-se 9g de fosfato de sódio bibásico (Na_2HPO_4) e 1,5g de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4), adiciona-se um litro de água purificada ou deionizada, em seguida faz-se a leitura do pH, caso o pH não esteja em 7, deve-se regular o pH com hidróxido de sódio 1N (NaOH) quando a amostra apresentar-se com pH ácido não desejado ou ácido clorídrico 1N (HCl) para obter o pH desejado. Logo após, adicione-a em um frasco de vidro de 500mL, tampe-o (Figura 8), põe-se fita de autoclavação e leve-a a autoclave (Imagem 5) para serem esterilizados.

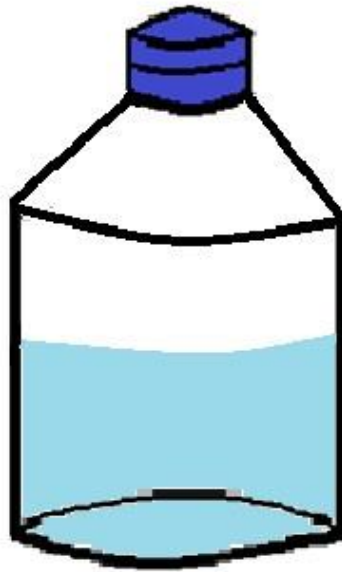


Figura 8: Frasco de 500mL com 180mL da solução buffer padrão, pH 7,0.
Autor: NASCIMENTO, A. P.

4.9.2 Glutamato simples

Inicialmente pesa-se 11,35g mineral modified glutamate medium base, 6,35g de sodio L-glutamato monohidratado $C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$ e 2,5g de cloreto de amônio (NH_4Cl), adiciona-se um litro de água purificada ou deionizada, em seguida faz-se a leitura do pH (identificado no frasco), caso o pH não esteja em $6,7 \pm 0,1$, deve-se regular o pH com NaOH 1N quando a amostra apresentar-se com pH ácido não desejado ou HCl 1N para obter o pH desejado. Logo após, adicione-a em um frasco de vidro de 100 mL contendo um tubo de durhan invertido, tampe-o (Figura 9), poe-se fita de autoclavação e leva-se a autoclave (Imagem 5) para serem esterilizados.

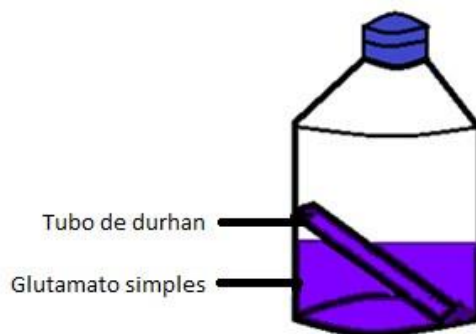


Figura 9: Frasco de 100 mL com 50 mL de caldo glutamato simples. Autor:
NASCIMENTO, A. P.

Prepara-se glutamato simples de 10 mL em tubos. Com uma pipeta descartável transfira-se 10 mL de glutamato simples a um tubo contendo tubo de durhan invertido, tampe-o (Figura 10), põe-se fita de autoclavação e leva-se a autoclave (Imagem 5) para serem esterilizados.

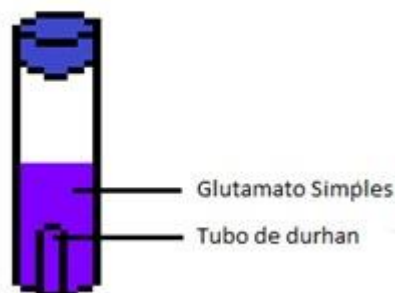


Figura 10: Tubo com 10 mL de caldo glutamato simples. Autor: NASCIMENTO, A. P.

4.9.3 Glutamato duplo

Inicialmente pesa-se 22,7g mineral modified glutamate medium base, 12,7g de sodio L-glutamato monohidratado $C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$ e 5g de cloreto de amônio (NH_4Cl), adiciona-se um litro de água purificada ou deionizada, em seguida faz-se a leitura do pH (identificado no frasco), caso o pH não esteja em $6,7 \pm 0,1$, deve-se regular o pH com NaOH 1N quando a amostra apresentar-se com pH ácido não desejado ou HCl 1N para obter o pH desejado. Logo após, adicione-a em um frasco de vidro de 250 mL contendo dois tubos de durhan invertido, tampe-o (Figura 11), põe-se fita de autoclavação e leva-se a autoclave (Imagem 5) para serem esterilizados.

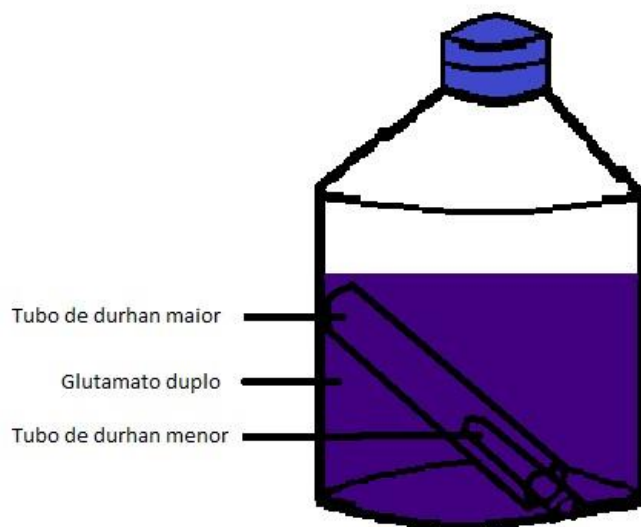


Figura 11: Frasco de 250 mL com 100 mL de caldo glutamato duplo. Autor: NASCIMENTO, A. P.

5.9.4 E. coli

Inicialmente pesa-se 37g do meio de cultura e adiciona-se um litro de água purificada ou deionizada, em seguida faz-se a leitura do pH (identificado no frasco), caso o pH não esteja em $6,9 \pm 0,2$, deve-se regular o pH com NaOH 1N quando a amostra apresentar-se com pH ácido não desejado ou HCl 1N para obter o pH desejado. Logo após, adicione-a em um tubo de vidro, tampe-o (Figura 12), poe-se fita de autoclavação e leva-se a autoclave (Imagem 5) para serem esterilizados.



Figura 12: Tubo com 10 mL de caldo E. coli. Autor: NASCIMENTO, A. P.

4.9.5 Standard methods agar (agar PCA)

Inicialmente pesa-se 23,5g do meio de cultura e adiciona-se a um litro de água purificada ou deionizada, em seguida faz-se a leitura do pH (identificado no frasco), caso o pH não esteja em $7,0 \pm 0,2$, deve-se regular o pH com NaOH 1N quando a amostra apresentar-se com pH ácido não desejado ou HCl 1N para obter o pH desejado. Logo após, adicione-a em um frasco de vidro de 250 mL, tampe-o (Figura 13), poe-se fita de autoclavação e leva-se ao microondas por alguns minutos, até que dilua completamente. Posteriormente, leva-se a autoclave (Imagem 5) para serem esterilizados.



Figura 13: Frasco de 250 mL com ágar PCA. Autor: NASCIMENTO, A. P.



Imagem 5: Autoclave de esterilização de materiais e reagentes. Autor: NASCIMENTO, A. P.

4.10 Contagem de coliformes totais (CT)

A análise de contagem de CT é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente

é separada as amostras em malha grossa (malha 8) e malhas fina (malha 20 e 30). Na qual, deve-se esterilizar cada saquinho de amostra com algodão ensopado de álcool 70%, levase a câmara microbiológica (devidamente limpa e esterilizada). Abre-se o saquinho da amostra dentro da câmara microbiológica e limpe-a as bordas, pesa-se 20g de cada amostra em um copo descartável, faz-se uma mistura em um saquinho, em seguida pesase 20g e logo após adiciona-se a amostra 180 mL de solução tampão padrão pH 7, deixase entumecer por uma hora (não mais que isso), leva-se ao banho-maria por 30 minutos sob uma temperatura de 45°C. Posteriormente, com uma pipeta descartável adiciona-se 10 mL em um frasco de glutamato simples, leve-as á estufa de 29 a 31°C por 48 horas.

Após as 48 horas é feito a verificação da amostra, para observar se há presença de coliformes totais. Sendo assim, quando a amostra é negativa não há turvação e nem formação de bolha, porém, se apresenta turvação e formação de bolha, indica que a mesma é positiva para CT (Figura 14).



Figura 14: Amostra negativa e uma positiva para CT. Autor: NASCIMENTO, A. P.

4.11 Contagem de coliformes fecais (CF)

A análise de contagem de CF é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Inicialmente é separada as amostras em malha grossa (malha 8) e malhas fina (malha 20 e 30). Na qual, deve-se esterilizar cada saquinho de amostra com algodão ensopado de álcool 70%, levase a câmara microbiológica (devidamente limpa e esterilizada). Abra o saquinho da amostra

dentro da câmara microbiológica e limpe-a as bordas, pesa-se 20g de cada amostra em um copo descartável, faz-se uma mistura em um saquinho, em seguida dessa mistura pesa-se 20g e logo após adiciona-se a amostra em um Buffer Padrão de 180 mL, deixe-a entumecer por uma hora (não mais que isso), leve-as ao banho-maria por 30 minutos sob uma temperatura de 45°C. Posteriormente, com uma proveta esterilizada meça-a 100 mL da amostra, seguidamente insira-a em frasco de glutamato duplo, leve-as ao banho-maria de 44 a 45°C por 48 horas.

Após as 48 horas é feito a verificação da amostra, para observar se há presença de coliformes fecais. Sendo assim, quando a amostra é negativa não há turvação e nem formação de bolha, porém, se apresentar turvação e formação de bolha, indica que a mesma é suspeita para coliformes fecais (Imagem 15), por isso, deve-se seguir com a confirmação.

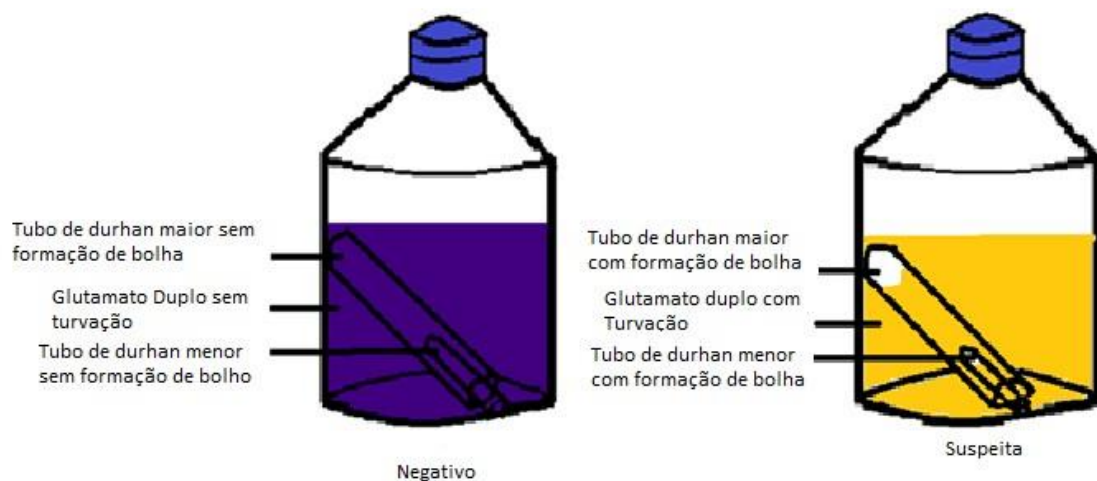


Figura 15: Amostra negativa e uma com suspeita de CF. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Com isso, usa-se uma alça descartável e transfere-se uma alçada para o caldo glutamato simples de 10 mL, leva-se ao banho-maria sob temperatura de 44 a 45°C por 48 horas, após faz-se a leitura. Sendo que, quando a amostra é negativa não há turvação e nem formação de bolha, porém, se apresenta turvação e formação de bolha, indica que a mesma é suspeita para CF (Figura 16), por isso, deve-se seguir a confirmação.

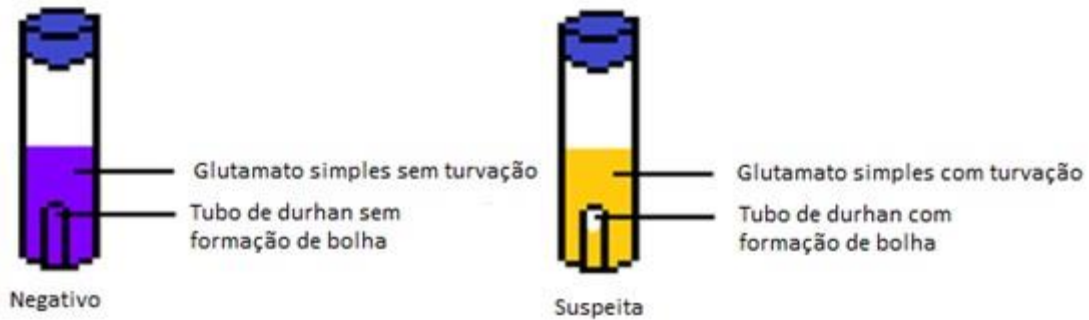


Figura 16: Amostra negativa e uma com suspeita de CF. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Transfere-se uma alçada da amostra suspeita para o caldo E. Coli de 10 mL, levase ao banho-maria sob temperatura de 44 a 45°C por 48 horas, após, faz-se a leitura. Sendo que, quando a amostra é negativa não há turvação e nem formação de bolha, porém, se apresenta turvação e formação de bolha, indica que a mesma é positiva para CF (Figura 17).



Figura 17: Amostra negativa e uma positiva para CF. Autor: NASCIMENTO, A. P.

4.12 Contagem total de bactérias (CTB)

A análise de CTB é realizada para as amostras obtidas com granulometria 8, 20 e 30 que passaram pelo primeiro processo de peneiração. Segue metodologia de diluição descrita na literatura (GUERRA, 2016), na qual indica que os alimentos podem conter quantidades diferentes de microrganismos, variando de zero a bilhões. Para isso, é necessário que se faça a diluição, pois a quantidade de microrganismo é diluída. Dessa forma, na primeira diluição pode ser usadas diferentes volumes, porém deve-se manter a

proporção de 1:9, seguindo assim o mesmo fator de diluição de 10 vezes (Tabela 6), que pode ser em gramas ou em mililitro.

Tabela 6: Diluição de amostras de alimentos e bebidas. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Volume de alíquota (g ou mL)	Volume de diluente (g ou mL)
0,1	0,9
1	9
10	90
20	180
25	225
50	450

Da primeira diluição que será a 10^{-1} é possível fazer outras diluições, pois quando há uma quantidade grande de microrganismos, não tem como fazer a CTB, com isso deve-se ter outras diluições (Figura 18).

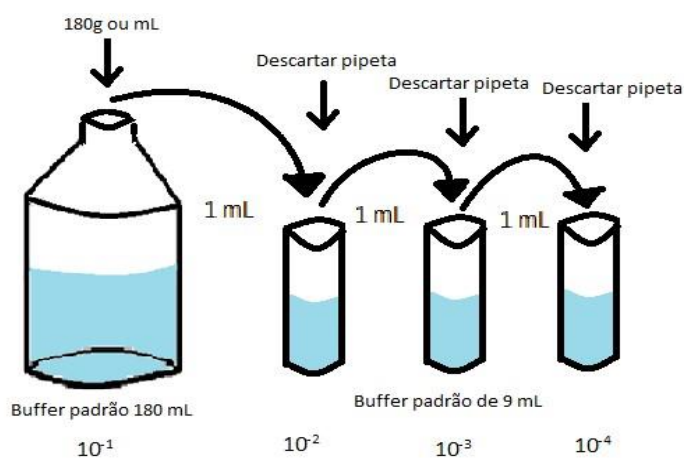


Figura 18: Formas de diluições. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Inicialmente é separada as amostras em malha grossa (malha 8) e malhas fina (malha 20 e 30). Na qual, deve-se esterilizar cada saquinho de amostra com algodão ensopado de álcool 70%, leva-se a câmara microbiológica (devidamente limpa e esterilizada). Abra o saquinho da amostra dentro da câmara microbiológica e limpe-a as bordas, pesa-se 20g de cada amostra em um copo descartável, faz-se uma mistura em um

saquinho, em seguida dessa mistura pesa-se 20g e logo após adiciona-se a amostra em um Buffer Padrão de 180ml que será a diluição 10^{-1} , deixe-a entumecer por uma hora (não mais que isso), leve-as ao banho-maria por 30 minutos sob uma temperatura de 45°C . Posteriormente, dilua-se o ágar PCA no micro-ondas e leve-o ao banho-maria sob temperatura de 45°C , pois só poderá utilizá-lo quando a temperatura estiver por volta de 48°C (para não matar os microrganismos, caso exista). As análises devem ser feitas em duplicata, dessa forma, inócuje 1mL da amostra com uma ponteira descartável em uma placa de petri descartável ou esterilizada, ponha um pouco de ágar PCA, e faça movimento em forma de oito sob a placa de petri (Imagem 6), deixe-as em repouso para que possa gelificar, em seguida leve-as a estufa de 29 a 31°C por 72 horas.

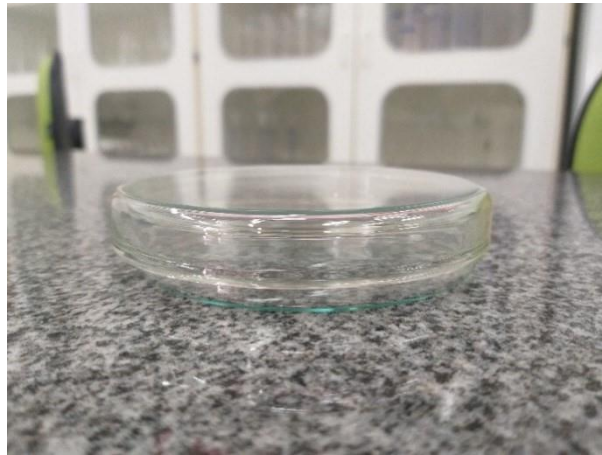


Imagem 6: Placa de petri de vidro, utilizado para colonização de colônias.

Autor: NASCIMENTO, A. P.

Após as 72 horas, faz-se a contagem total de bactérias (Figura 19) em unidade formadora de colônias (UFC), pelo fato de serem analisadas em duplicata, deve-se tirar a média.

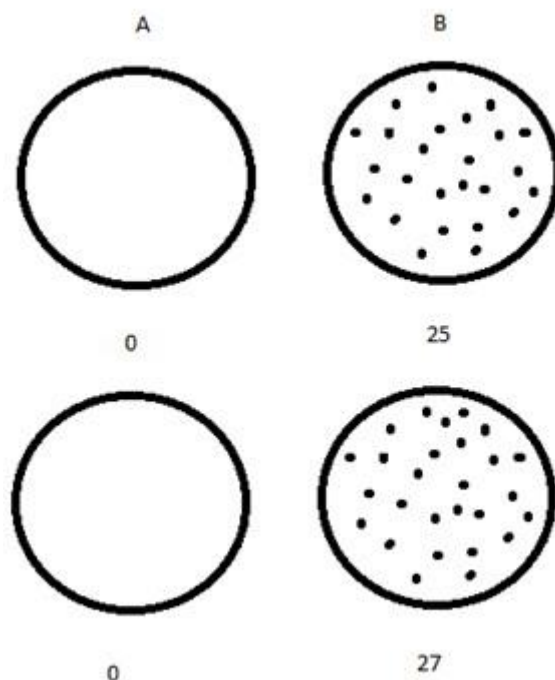


Figura 19: Placa A não há presença de CTB e placa B a presença de CTB, com diluição 10^{-1} . Autor: NASCIMENTO, A. P.

$$\text{Média da placa A} = \frac{0+0}{2} = 0 \text{ UFC}$$

$$\text{Média da placa B} = \frac{25+27}{2} = 26 \text{ UFC}$$

De acordo com a metodologia (GUERRA, 2016), o resultado é dado em UFC/g ou mL, com isso, deve-se destacar a quantidade de amostra em cada nível de diluição (Tabela 7) e fazer a transformação de UFC para UFC/g ou mL, através do cálculo.

Tabela 7: Quantidade de amostra em cada nível de diluição por g ou mL. Autor: NASCIMENTO, A. P.

Nível da diluição	Quantidade de amostra por (g ou mL)
10^{-1}	0,1
10^{-2}	0,01
10^{-3}	0,001
10^{-4}	0,0001

Dessa forma a diluição do exemplo da placa A e B (Figura 17) é 10^{-1} , então segue abaixo o cálculo para mesma. Para placa A:

0 UFC → 0,1 g ou mL

x UFC → 1g ou mL x

= 0 UFC/g ou mL

Para placa B:

26 UFC → 0,1 g ou mL

x UFC → 1g ou mL $x =$

260 UFC/g ou mL

5 CONCLUSÃO

Os processos de obtenção de gelatina a partir de matéria prima como, pele bovina, pele suína ou de origem de outras espécies animais, assim como também de vegetais, são bastante estudados devido a importância do produto obtido para a indústria internacional. As metodologias utilizadas no controle de qualidade do produto industrializado envolvem desde granulometria, condutividade, transmitância, cor, pH, turbidez, peróxido, umidade, GI, preparação de meios de cultura, coliformes totais, coliformes fecais e contagem total de bactérias.

As metodologias descritas foram desenvolvidas por várias áreas da pesquisa, e são utilizadas nas diversas análises de amostras tendo como característica a natureza do processo analítico, não sendo apenas exclusivos para o processo de análise de gelatina. Tendo desde processos simples de análise como granulometria até processos que requerem uma atenção especial do analista envolvido como microbiologia.

A cidade de Araguaína no estado do Tocantins tem em seu território a empresa GELNEX, instalada deste 2010, sendo responsável pela produção de gelatina que se distribui para várias partes do mundo. A empresa também é responsável por absorver mão de obra local e realizar ações sociais na localidade que está instalada, com isto faz papel importante no desenvolvimento do estado.

6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALMEIDA, P. F. **Aplicação de Gelatina de Subproduto Animal como Substituto Parcial de Gordura em Spread de Chocolate**, Tese de Doutorado, São Paulo, 2016. Acesso 09, outubro de 2019.
- BASTOS, A. R.; AFONSO, J. C. **Separação Sólido-Líquido: Centrífuga e Papéis de Filtro**, *Quim. Nova*, Vol. 38, p. 749-756, 2015. Acesso 09, outubro de 2019
- BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**, 4^o ed., Vol. 2, São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006.
- BROWN, T. L. et al. **Química a Ciência Central**, 9^o ed., São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2007.
- CARRISSO, R. C. C; CORREIRA, J. C. G. **Comunicação Técnica elaborada para a 4^o ed. do Livro de Tratamento de Minérios**, p. 197 – 238, 2004. Acesso 10, outubro de 2019.
- CORREIA, A. et al. **Análise da Turbidez da Água em Diferentes Estados de Tratamentos**, Rio Grande do Norte, 2008. Acesso 11, outubro de 2019.
- FERREIRA, M. F. **Extração e Caracterização de gelatina proveniente de subprodutos do Frango: Pés**, Conclusão de Graduação, Campo Mourão – Paraná, 2013. Acesso 21, setembro de 2019.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**, 2^o ed, Porto Alegre: Artmed, 2013.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo: Ed. Atheneu, 2008.
- GOMES, J. C. e OLIVEIRA, G. F. **Análises Físico-Químicas de Alimentos**, Viçosa, MG: Ed. UFV, 2011.
- GRAZIOLA, Fabiana, **Obtenção e Caracterização de Microesfera de Gelatina Reticuladas com Flavonoide para a aplicação em fotoprotetores**, Título de Mestre, São Paulo, 2013. Acesso 28, agosto de 2019
- GUERRA, A. F. **Microbiologia de alimentos – Métodos de contagem microbiana**, Valença, 1^o ed., 2016, 28p.
- HAGE, D. S.; CARR, J. D. **Química Analítica e Análise Quantitativa**, 1^o ed., São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2013.
- KOTZ, J. C. et al. **Química Geral e Reações Químicas**, Vol. 1, 6^o ed., São Paulo: Cengage Learning, 2010.
- KOTZ, J. C. et al. **Química Geral e Reações Químicas**, Vol. 2, 6^o ed., São Paulo: Cengage Learning, 2011.
- KREUZER, H. e MASSEY, A. **Engenharia Genética e Biotecnologia**, 2^o ed., Porto Alegre: Artmed, 2002.
- LEE, J. D. **Química Inorgânica não Tão Concisa**, 5^o ed., Editora Edgard Blucher, São Paulo, 2000.

- MADIGAN, M. T. et al., **Microbiologia de Brock**, 14^o ed., Porto Alegre: Artmed, 2016.
- MIMS, C. et al. **Microbiologia Médica**, 2^o ed., Vol. 2, Espanha, ed. Manole, 1999.
- MOORE, W. J. **Físico-Química**, 4^o ed., Vol. 2, São Paulo: Edgard Blücher, 1976.
- NELSON, D. L. e COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, 6^o ed., Porto Alegre: Artmed, 2014. Acesso 02, setembro 2019.
- NISHIHORA, R. Kenji, **Propriedades de Filmes de Gelatina Reticulados Por Via Enzimática e Física**, 2015. Acesso 28, agosto de 2019.
- PALAZZO, A. B., **Análise Tempo-Intensidade, Perfil Descritivo e Estudo de Consumidor de Gelatinas e Diet Sabor Framboesa**, Título de Mestre, Campinas, 2008. Acesso 01, setembro 2019.
- PRESTES, R. C. et al., **Caracterização da Fibra de Colágeno, Gelatina e Colágeno Hidrolisado**, Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v. 15, n 4, p 375-382, 2013. Acesso 27, agosto 2019.
- RIBEIRO, R. M. **Tratamento do Resíduo da Indústria de Gelatina Através da Compostagem, com Emprego de Serragem e Palha de Café**, Título de Mestre, Lavras - Minas Gerais, 2007. Acesso 22, setembro de 2019.
- ROJAS, V. M. **Extração e Caracterização de Gelatina de Subprodutos Suínos**. 2014. 54f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.
- RORATTO, T.B. **Relatório Final de Estágio Curricular Supervisionado HATHOR GROUP**, Florianópolis, 2014. Acesso 01, setembro 2019.
- RUSSELL, J. B. **Química Geral**, 2^o ed., Vol. 1, São Paulo: Pearson Makron Books, 1994.
- SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handbook**. Weinheim: Wiley-VCH GmbH, 2007.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 4^o ed., São Paulo: Editora Atheneu, 2005.
- VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. **Química Orgânica Estrutura e Função**, 4^o ed., Porto Alegre: Bookman, 2004.