

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

Utilização de tarsos de aves
(*Gallus, gallus* - L. 1758)
para elaboração de gelatina
comestível.

Regina Lúcia Tinôco Lopes
Engenheira Química.

Orientador:

Prof. Dr. Thiel Schwartz Schneider

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

- JUNHO/1976 -

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À memória de Celso,
que foi quem mais me in-
centivou na realização -
deste trabalho.

Queremos expressar nossos agradecimentos:

Ao Prof. Dr. *Ihriel Schwartz Schneider*, pela orientação deste trabalho.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. *Andrê Tosello*.

Ao Centro Tecnológico de Minas Gerais - CETEC, pela colaboração financeira.

Ao pessoal administrativo e técnico da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas.

Em especial, aos Professores *Valdemiro C. Sgarbieri*, *Frederick C. Strong III*, *José Luiz Vasconcellos da Rocha* e *Fumio Yokoya*, pela boa vontade em ceder-nos seus laboratórios para os ensaios experimentais.

À Srta. *Ana Lourdes Neves Gandara*, pelo auxílio prestado na execução dos exames microbiológicos.

Ao Prof. Dr. *Leopold Hartman*, pela versão ao inglês do resumo deste trabalho.

À direção da *Leiner do Brasil Gelatinas S/A*, por nos terem permitido a utilização dos seus laboratórios.

A todas aquelas pessoas, que dentro ou fora do meio universitário, nos auxiliaram, de uma ou de outra forma, com amizade, críticas e sugestões.

Í N D I C E

	Página
RESUMO	i
SUMMARY	iii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5. CONCLUSÕES	57
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

RESUMO

Considerando o crescente emprego da gelatina na indústria alimentícia e a necessidade de dar-se utilização mais nobre aos sub-produtos de matadouros de aves, foi idealizado o presente trabalho, que teve como principal objetivo, produzir gelatina a partir de pés de frangos.

Em uma fase preliminar foi realizada uma série de estudos sobre as propriedades da gelatina, a fim de se estabelecer uma técnica de extração que fornecesse um produto dentro de padrões comerciais razoáveis.

A técnica finalmente adotada, consistiu em colocar os pés das aves, já lavados e picados, de molho em solução de ácido clorídrico a 0,3%, em temperatura ambiente durante 20 horas. A seguir, o excesso de ácido foi eliminado por lavagem em água corrente, finalmente, adicionadas duas partes de água e o pH ajustado em torno de 6,0. Este material era então aquecido por tempos e temperaturas variáveis, dependendo da qualidade gelificante desejada, uma vez que quanto mais enérgico o tratamento, menor é a "força de gel".

O extrato assim obtido, era então separado da gordura, filtrado, clarificado e secado, sendo estas operações efetuadas em temperaturas ao redor de 60°C.

O trabalho realizado em escala de laboratório, indicou que pés de frangos constituem uma boa matéria prima para obtenção de

gelatina, sendo que foi possível um rendimento de 15% de gelatina em relação ao peso da matéria prima original.

O exame microbiológico evidenciou que a gelatina obtida continha população microbiana muito aquém dos padrões geralmente aceitos em vários países do mundo, denotando tratar-se de produto elaborado dentro de parâmetros higiênicos aceitáveis.

SUMMARY

In view of the growing use of gelatine in the Food Industry and of the need of a better utilization of by-products obtained in the slaughter houses of domestic birds, the present work was carried out with the purpose of producing gelatine from the feet of chicken.

During the preliminary phase of this work a series of investigations on the properties of gelatine was realized, in order to establish an extraction technique which would yield a product satisfying reasonable commercial requirements.

The technique adopted consisted in placing the chicken feet, previously washed and chopped in a solution of hydrochloric acid of 0,3% at room temperature during 20 hours. Subsequently the excess of acid was removed by washing with running water, followed by the addition of two parts of water and adjusting the pH at 6.0. This material was heated for various times and at various temperatures, depending on the jellying properties desired, the "jellying strength" decreasing with the intensity of the treatment.

The extract thus obtained was separated from fat, filtered, clarified and dried, these operations being performed at temperatures around 60°C.

The above laboratory experiments indicated that chicken feet represent a good raw material for producing gelatine, as it was possible to obtain a 15% yield of gelatine on the basis

of the original raw material.

Microbiological examination showed that the gelatine thus prepared contained a microbial population much below the standards adopted in various countries, indicating that the product is acceptable from the hygienic point of view.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da avicultura no Brasil é fato incontestável. Nos últimos anos este crescimento ultrapassou as mais otimistas expectativas, conforme se pode verificar na Tabela 1, abaixo:

TABELA 1

Desenvolvimento da Avicultura no Brasil

1969 a 1975

Ano	Frangos Abatidos milhões	Produção de carne de frango em ton.
1969	110	154.000
1970	115	217.000
1971	160	224.000
1972	210	294.000
1973	285	401.000
1974	350	525.000
1975	420	630.000

Fonte : Ministério da Agricultura

Minas Gerais, que é um Estado cuja avicultura está em fase de desenvolvimento incipiente, já apresentou nos dez primeiros meses de 1975, uma produção de quase 6 milhões de aves (dados fornecidos pelo D.I.P.O.A. de Belo Horizonte).

Face a este evento, surgiram as chamadas "doenças do crescimento", ou seja, problemas consequentes a esse mesmo fato e um dos mais sérios problemas é aquele referente aos sub-produtos não comestíveis (penas e vísceras) e, seguindo-se-lhe em importância, o de alguns produtos que, embora comestíveis, não apresentam uso adequado. É o caso dos tarsos (pés) que as donas de casa, geralmente, arremessam ao lixo, já que não se pode fazer maior proveito de um par de pés que costuma acompanhar cada ave oferecida ao consumo.

Tendo em vista, portanto, o acelerado crescimento da avicultura e a instalação de novos abatedouros providos com o que de melhor, mais moderno e mais higiênico existe em equipamentos, viu-se o Governo, através do Ministério da Agricultura, impelido a regulamentar esta atividade e, ao que sabemos, tal legislação proibirá a introdução dos tarsos no interior das cavidades abdominal e torácica, como vem sendo feito até então, visando com este ato impedir a contaminação das cavidades internas das aves pelo material aderido aos seus pés e dedos.

Em consequência desta nova legislação surgirá, seguramente, o problema de como achar um melhor aproveitamento industrial para os tarsos das aves, já que estes não podem ser convenientemente transformados em farinhas, notadamente na fase de moagem.

Tendo em conta, ainda, que este material é rico em tecido colágeno, precursor de gelatina - proteína de largo uso em várias

indústrias - e face à necessidade de se prover mais alimentos de baixo custo às populações mais carentes, resolvemos estudar o seu aproveitamento sob a forma de gelatina comestível, procurando estabelecer os parâmetros de processamento, baseados em ensaios de laboratório e planta piloto, que permitissem sua produção competitiva em larga escala.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Considerações Gerais

2.1.1. Tecido conjuntivo

Este tecido é formado de células, numerosas fibras e muito material intercelular. Varia de um tecido extremamente fino e delicado encontrado entre e no interior dos órgãos, a um tecido de feixes compactos que forma as aponevroses, os tendões e os ligamentos. As cartilagens e os ossos contêm um tecido conjuntivo especial ao passo que o tecido adiposo, também um tecido conjuntivo, é mais rico em células, as quais contêm grande quantidade de lipídeos (39).

Dois tipos de fibras se encontram nos diferentes tecidos conjuntivos:

- a) brancas-colágenas
- b) amarelas-elásticas

As fibras brancas-colágenas são agrupadas em feixes compostos de filamentos ondulados, sendo fortes e resistentes à tração. Elas formam porção substancial da pele, dos tendões e das camadas dos tecidos conjuntivos inter e intra musculares dos vertebrados. Estas fibras são encontradas também no humor vítreo dos olhos, bem como nas barbatanas dos peixes (22).

2.1.2. O colágeno

As fibras desta proteína são pouco elásticas e sofrem contração térmica de uma fração do seu tamanho, a uma temperatura que é característica do colágeno de determinado animal e que varia de uma espécie para outra. Elas são bastante resistentes à maioria das enzimas proteolíticas sendo, todavia, especialmente atacadas pela collagenase. Esta enzima, isolada do Clostridium histolyticum, foi usada para estudos de determinação da sequência dos aminoácidos do colágeno (39).

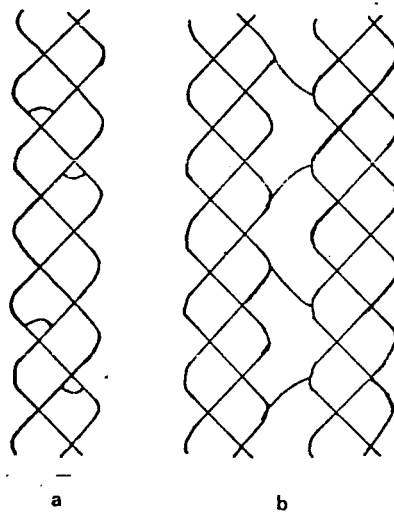
Este apresenta uma aparência distinta ao microscópio eletrônico, mostrando estriações transversais, que se repetem regularmente a intervalos de aproximadamente 660Å (52), conforme se vê na Fig. 1 (5, 24).

Como uma classe, os colágenos são mais caracteristicamente identificados por fotografia de difração de raio-X, que é facilmente reconhecida pelo forte espaçamento meridional de 2,68Å, pela reflexão equatorial de 11 a 15Å e por uma mancha difusa a 4,9Å (5, 52).

A unidade estrutural do colágeno é a molécula monomérica tropocolágeno (45). Boedtker and Doty (7), usando técnicas físico-químicas, descreveram o tropocolágeno da bexiga natatória da carpa como tendo uma molécula em forma de bastão, rígida, com comprimento de 3.000Å e o peso molecular de 343.000. Através de estudos com o emprego de mi-

croscópio eletrônico foram confirmadas a forma e as dimensões do monômetro do colágeno (20).

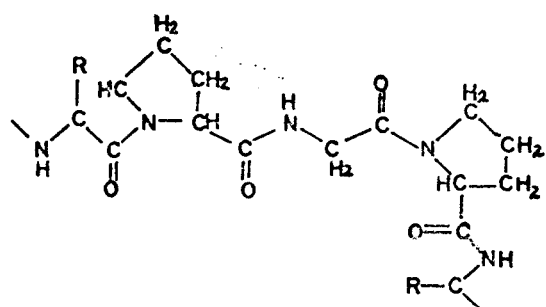
Na sua essência, a estrutura consiste de três cadeias polipeptídicas, cada uma disposta ao redor do seu eixo. Estas cadeias se enrolam umas nas outras, formando uma super-hélice, ao redor de um mesmo eixo imaginário. As três cadeias de cada conjunto são mantidas reunidas por ligações intra e inter-cadeias que, na maioria, são pontes de hidrogênio, conforme Fig. 2 (40).



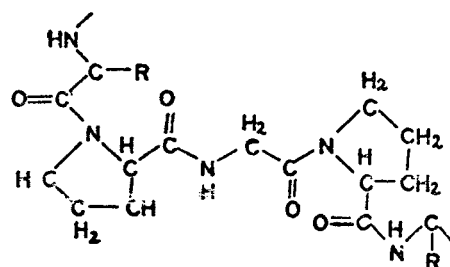
a_ligações cruzadas intramoleculares
b_ligações cruzadas intermoleculares

FIGURA 2 - Ligações cruzadas inter e intramoleculares do colágeno.

A configuração helicoidal estável da cadeia protéica, que é característica do colágeno, ocorre nas regiões não polares da cadeia que é rica em prolina e hidroxiprolina (40). A presença dos anéis pirrólicos da prolina e da hidroxiprolina influenciam a forma da hélice das cadeias de colágeno, pois que estes introduzem uma dobra no esqueleto primário, como ilustrado na Fig. 3.



Configuração cis: de aneis de prolina



Configuração trans de aneis de prolina

FIGURA 3 - Configurações da prolina

Ligações peptídicas envolvendo o grupo ϵ -amino da lisina e o grupo γ -carboxil do ácido glutâmico também foram demonstradas no colágeno (52). Vários açúcares têm sido encontrados com o colágeno de vários tecidos. Análises cromatográficas revelaram a presença de glicose, galactose, glucosamina, galactosamina, fucose, manose e em alguns casos arabinose. Entretanto, as

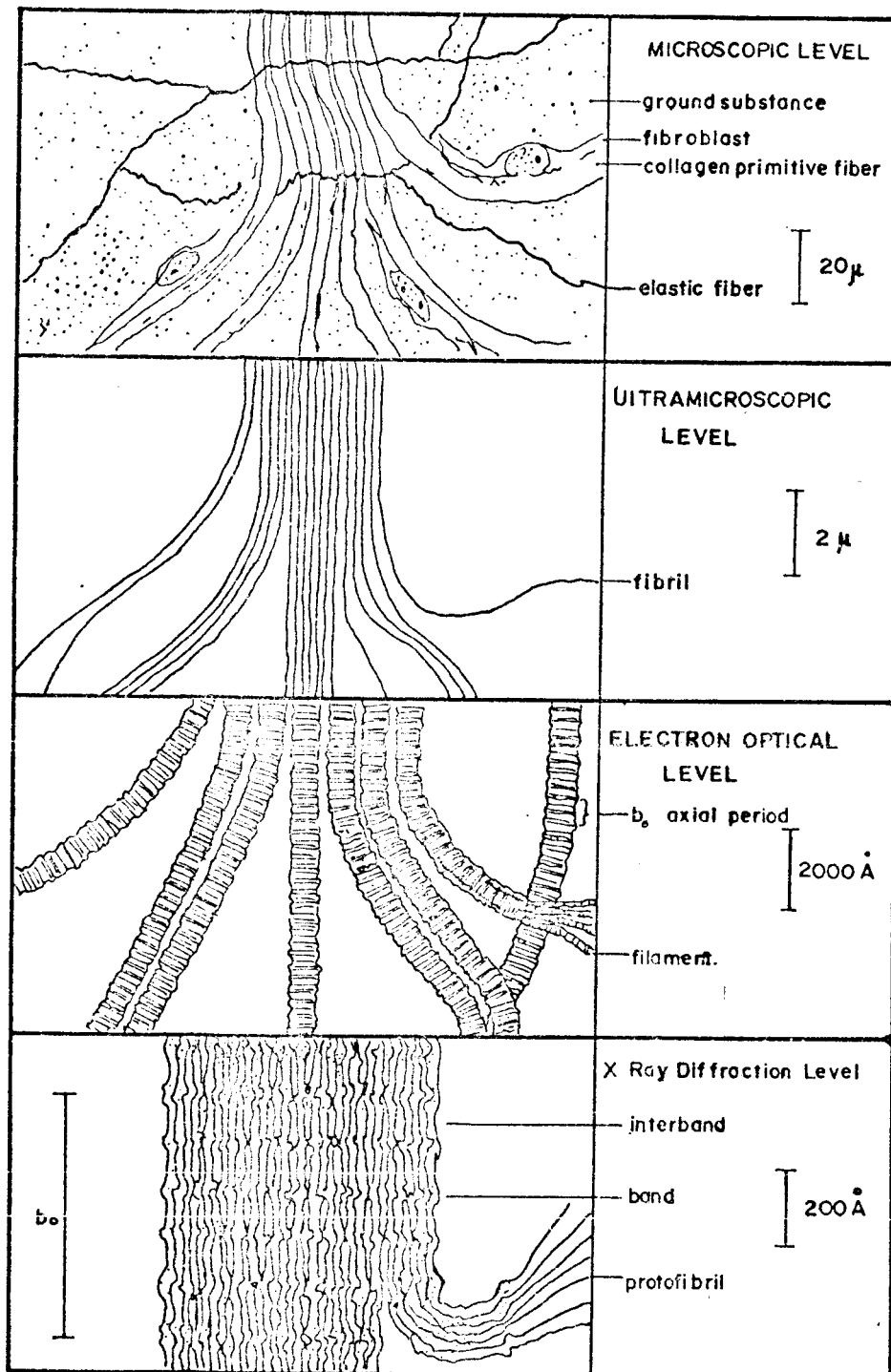


FIGURA 1 - Fibras de colágeno (Bear, 1952) (5).

quantidades remanescentes nos colágenos altamente purificados, são pequenas, geralmente menores que 2% do peso original (40, 25).

Enquanto as fibras do colágeno envelhecem "in vivo", elas parecem tornar-se progressivamente mais unidas umas às outras devido ao aumento de ligações cruzadas entre elas. Mc Clain et al (37), estudaram as ligações cruzadas no epimísio do músculo "Longissimus dorsi" e estimaram o seu número por molécula como sendo 4,09 num suíno de uma semana de idade e 21,31 num suíno adulto.

Zachariades foi o primeiro autor a mostrar que o colágeno poderia ser solubilizado pelo uso de técnicas bastante suaves, ao descobrir que frações apreciáveis de tendões de ratos poderiam ser dissolvidos em soluções diluídas de ácido fórmico, acético, oxálico, hidrocloreto, hidrobrômico, sulfúrico e outros (22, 45, 51). Entretanto, esta descoberta não se tornou significativa até 1927, quando Nageotte mostrou que extratos ácidos de colágeno-solúvel poderiam ser reconstituídos em fibras, que microscopicamente se assemelhavam ao colágeno original (45). Em 1954, foi possível dissolver o colágeno em condições alcalinas brandas e a partir de 1955, vários pesquisadores usaram soluções de sais neutros para solubilizá-lo. A solubilização e posterior reconstituição do colágeno abriram novo campo de pesquisas, permitindo a elaboração de novos produtos, tais como continentes para

salsicharia, bem como revestimentos de tamanhos os mais variados do tipo até então produzidos pela indústria de plásticos (22).

2.2. Conversão do colágeno em gelatina

O tecido colágeno, quando submetido a processamento térmico em atmosfera úmida, hidrolisa parcialmente, transformando-se em gelatina. A transformação ou conversão do colágeno em gelatina é o processo pelo qual as fibras de colágeno, altamente organizadas, quase cristalinas, são transformadas numa substância solúvel em água, constituída de moléculas menores bastante independentes e com grau de organização interna muito menor.

A ruptura da configuração da cadeia do colágeno é um aspecto essencial da transição colágeno-gelatina. A desordem das fibras solvatadas intactas é, geralmente, caracterizada por uma contração abrupta na direção do eixo das fibras, no momento em que estas são aquecidas, numa faixa específica de temperatura (51).

O fenômeno de contração pode ser observado submetendo-se um feixe de fibras de colágeno a um aquecimento lento. Foi demonstrado que a contração térmica e a transformação do colágeno em gelatina são manifestações semelhantes, envolvendo o colapso da rígida estrutura da molécula de colágeno (22).

Na desnaturação da maioria dos colágenos, as cadeias de gelatina resultantes não se separam todas umas das outras. Cada bas-

tão de tropocolágeno é composto de 3 cadeias de caráter α mas, provavelmente, de composição química diferente podendo conter ligações tipo éster para produzir a sub-unidade de duas cadeias ou as unidades β com pontes unindo as três cadeias(30), conforme Fig. 4.

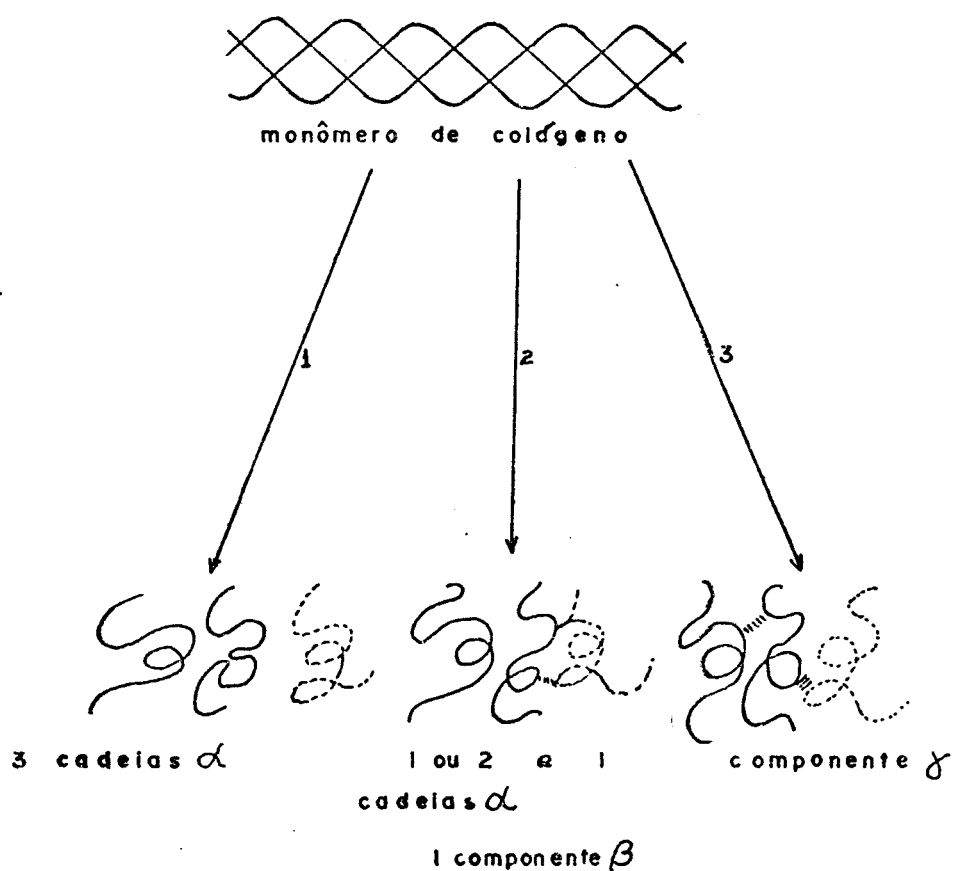


FIGURA 4 - Provável comportamento de conversão do colágeno em gelatina

2.3. Processamento industrial da gelatina

A extração de gelatina de colágeno tem sido praticada desde o ano de 4000 AC. As modernas fábricas, empregando processos que não diferem muito entre si, produzem vários tipos de gelatina que são utilizadas para grande variedade de aplicações (10, 11, 13).

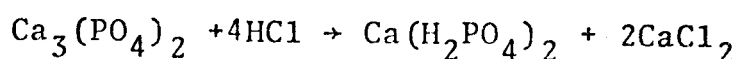
Os processos tradicionais de conversão de colágeno em gelatina, envolvem, basicamente, três etapas:

1. - Remoção do material estranho (não colágeno) da matéria prima;
2. - Conversão do colágeno em gelatina;
3. - Processamento da gelatina para obtenção de um produto comercialmente mais viável (28).

Estes processos variam um pouco de acordo com o tipo de matéria prima empregada como fonte de colágeno. As matérias primas mais usadas são: ossos, pele de porco e de bovino (23). Os ossos podem ser frescos ou secos. Os primeiros, provem de matadouros e contêm elevado teor de umidade, grande conteúdo de gordura e, provavelmente, algum tecido aderido. O segundo tipo é geralmente seco ao sol, como é comum na Índia, África e América do Sul. Este último contém considerável quantidade de impurezas na forma de sangue seco, o que pode vir a prejudicar o produto final (28, 43).

Quando se usam ossos frescos, a extração deve ser precedida por uma operação de fervura para remoção da gordura.

A extração da gelatina de ossos secos é precedida por uma primeira acidulação do material com ácido clorídrico diluído. O ácido dissolve o fosfato de cálcio contido nos ossos que pode ser posteriormente precipitado por adição de cal para fornecer então fosfato ácido de cálcio, que por sua vez, é removido por filtração (50). A reação principal consta da dissolução do fosfato tricálcico como sal mono-cálcico (28), conforme equação abaixo:



Depois da extração dos minerais dos ossos, o material orgânico remanescente é conhecido pelo nome de osseína, que constitui a matéria prima a ser convertida em gelatina (30).

Dois procedimentos são comumente usados na preparação comercial de gelatinas: o de pré-tratamento ácido e o de pré-tratamento básico. O primeiro produz a gelatina comercialmente denominada A e o segundo a gelatina tipo B. O objetivo do pré-tratamento é o de romper as ligações da estrutura do colágeno, sem tornar o material solúvel em água, facilitando assim a sua conversão em gelatina na etapa subsequente.

2.3.1. Pré-tratamento ácido

O pré-tratamento ácido é usualmente aplicado às peles de suínos, coelhos e também à osseína (30). Este material é pois colocado de molho, numa solução de ácido inorgânico por 10 a 30 horas para intumescimento. Entre os ácidos usados, podemos citar: ácido clorídrico, sul-

fúrico, fosfórico, acético, fumárico, cítrico, málico, tartárico, adípico e oxálico (49). Após este período em meio ácido, o material é lavado e o pH ajustado à faixa de 4 (25, 40). Desta forma, a maior parte das proteínas que não o colágeno e que têm ponto isoelétrico na faixa de pH 4 a 5, são coaguladas e removidas (30).

Em seguida, o material é submetido a uma série de extrações com água quente, iniciando-se com água à temperatura de cerca de 60°C e, aumentando-se esta a intervalos de 5 ou de 10°C para cada tratamento sucessivo (40). A conversão completa dura 18 a 36 horas para uma concentração média de gelatina na faixa de 3 a 5% (32). Deste modo, a gelatina não é deaminada, obtendo-se um produto com ponto isoelétrico de aproximadamente pH 9. De modo geral, a gelatina de extração ácida apresenta menor quantidade de resíduos N-terminal por unidade de peso, se comparada à gelatina processada com bases. Todavia, conforme Courts (12), mesmo assim, ainda ocorre alguma degradação de suas cadeias. As moléculas de gelatina permanecem com estrutura em rede, muito semelhante às fibras do colágeno intacto, mas com a estrutura secundária desorganizada e alguma hidrólise nas ligações peptídicas (40).

2.3.2. Pré-tratamento alcalino

O tratamento alcalino é o processo comercial mais usa-

do, podendo ser empregado com qualquer tipo de matéria prima. Consiste em impregnar a pele ou os ossos desmineralizados (osseína) com uma solução saturada de CaO com pH 12 a 12,5 por 3 a 10 meses (38). Decorrido este período, o material é submetido a lavagem para a remoção do óxido de cálcio. Ajusta-se então o pH para 5 a 8 e procede-se a uma série de extrações com água quente, como no processo anterior. A solução de cal produz alguma hidrólise nas ligações peptídicas e, causa, também, ruptura de forças intermoleculares, permitindo um inchamento pronunciado da matéria prima (40). No meio alcalino utilizado para extração, os grupos amida dos resíduos de glutamina e asparagina são convertidos em grupos carboxil, com liberação de amônia (28), resultando uma gelatina com ponto isoeletrico de pH 4,7 a 5,1. Por outro lado, um número significativo de ligações peptídicas é rompido no pré-tratamento alcalino, como se pode notar através do aparecimento de resíduos N-terminal (18).

Aumentando-se o tempo de permanência na solução alcalina, ocorrem vários fatos, como seja:

1. - Aumento da taxa de conversão em gelatina no aquecimento posterior;
2. - Diminuição do conteúdo de nitrogênio e do número de grupos amida (2);
3. - Aumento do número de aminoácidos terminais;

4. - Diminuição do peso molecular da cadeia e
5. - Diminuição do ponto isoelétrico.

O procedimento alcalino envolve, portanto, modificações mais profundas na estrutura do colágeno, se comparado ao tratamento ácido (1, 35, 40).

A penetração excessiva de ácidos ou de bases na matéria prima ocasiona excesso de hidrólise do colágeno, resultando um produto final com baixa força de gel (49).

2.3.3. Processamento do "líquor" de gelatina

O extrato diluído de gelatina resultante do pré-tratamento ácido ou básico é filtrado sob pressão para a remoção de todas as partículas suspensas que afetam a cor e a transparência do produto final. Para esta finalidade, pode-se usar terra Fuller e/ou carvão ativado (28). Depois de filtrado, o extrato é concentrado pela evaporação em vácuo parcial.

A solução concentrada é esfriada até quase atingir o ponto de gelificação, distribuída sobre uma correia transportadora e, imediatamente conduzida para uma câmara de refrigeração transformando-se, desta forma, numa camada de gel. Ao sair da câmara de refrigeração, sob a forma de folha contínua, esta é cortada em tiras, colocadas sobre formas de arame, que são levadas para um túnel de secagem. Neste, a umidade é reduzida a aproximadamente 10%. A gelatina é então removida do túnel, emba

lada sob a forma de folhas ou então, moída e pulverizada para formar o produto em pó (32, 49, 53, 54).

Tanto no tratamento ácido como no básico, cada extrato é seco separadamente e a gelatina resultante classificada quanto à força de gel e viscosidade. Cada extrato sucessivo varia, no que diz respeito a estas propriedades. Assim, por exemplo, Mark et al. (36), "obtiveram os seguintes dados sobre gelatinas de osseína que foram preparadas pelo processo alcalino:

Propriedades de extratos sucessivos de gelatina

	1a. extração	2a. extração	3a. extração
Temperatura °C	55 - 60	70 - 75	95 - 100
Rendimento total(%)	66,7	21,0	12,3
Força de gel(bloom)	256	171	82
Viscosidade(mps)	52,3	79,1	21,1
pH	6,6	6,8	6,5

É costume misturar gelatinas de extrações diferentes para a obtenção das características medianas desejáveis no produto final. Apesar desta prática industrial, as gelatinas encontradas no comércio apresentam características nem sempre homogêneas.

2.4. Composição química da gelatina

A gelatina é composta de 19 aminoácidos em proporções variáveis, dependendo do tipo de matéria prima e do pré-tratamento utilizados, conforme podemos ver na Tabela 2 (30).

Os aminoácidos prolina e hidroxiprolina, juntos, constituem mais que 25% da molécula de gelatina. Os aminoácidos que contêm enxofre são muito poucos, sendo a quantidade de metionina muito reduzida e praticamente não existindo cistina. A glicina é o aminoácido mais abundante, constituindo, aproximadamente, 30% da molécula. O triptofano, aminoácido de tanto valor nutritivo, está completamente ausente no colágeno. Nota-se, portanto, que além de ser pobre ou mesmo completamente carente em alguns aminoácidos essenciais, a gelatina é desequilibrada em outros, como é o caso de prolina, hidroxiprolina e glicina (24, 31, 32, 38).

TABELA 2

Composição em aminoácidos de diferentes gelatinas
(g/100g de gelatina)

AMINOÁCIDO	Tipo A ^a (%)	Tipo B(pele) ^b (%)	Tipo B(osso) ^c (%)
Alanina	8,6 -10,7	9,3 - 11,0	11,3
Arginina	8,3 - 9,1	8,55- 8,8	9,0
Ácido aspártico	6,2 - 6,7	6,6 - 6,9	6,7
Cistina	0,1	nenhum traço	traços
Glicina	26,4 -30,5	26,9 - 27,5	27,2
Ácido glutâmico	11,3 -11,7	11,1 - 11,4	11,6
Histidina	0,85- 1,0	0,74- 0,78	0,7
Hidroxilisina	1,04	0,91- 1,2	0,76
Hidroxiprolina	13,5	14,0 - 14,5	13,3
Isoleucina	1,36	1,7 - 1,8	1,54
Leucina	3,1 - 3,34	3,1 - 3,4	3,45
Lisina	4,1 - 5,2	4,5 - 4,6	4,36
Metionina	0,80- 0,92	0,80- 0,90	0,63
Fenilalanina	2,1 - 2,56	2,2 - 2,5	2,49
Prolina	16,2 -18,0	14,8 - 16,35	15,5
Serina	2,9 - 4,13	3,2 - 4,2	3,73
Treonina	2,2	2,2	2,36
Tirosina	0,44- 0,91	0,2 - 1,0	0,23
Valina	2,5 - 2,8	2,6 - 3,4	2,77

a - Neuman (1949), Graham et al. (1949) and Eastoe (1955).

b - Tristram (1953) and Eastoe (1955)

c - Eastoe (1955)

2.5. Propriedades físicas e físico-químicas

da gelatina

A gelatina é um composto anfotérico, isto é, possui grupos básicos (amino, guanidino) e ácidos (carboxil). A carga da molécula depende do pH da solução e de outros íons presentes. As variações na estrutura química das gelatinas comerciais tipo A e tipo B, se traduzem por diferenças nas suas propriedades físicas, conforme se pode ver na Tabela 3 (30, 44).

TABELA 3

Características das gelatinas comerciais
tipo A e tipo B

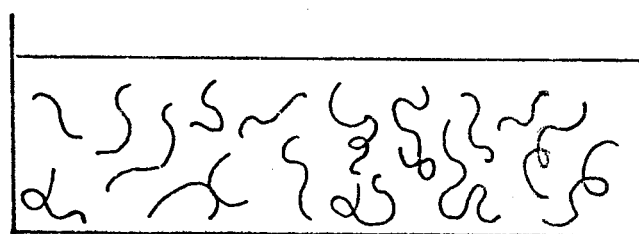
Característica	Gelatina tipo A	Gelatina tipo B
Umidade (%)	8 - 12	8 - 12
pH	3,8 - 5,5	5,0 - 7,5
Ponto isoeletrico (pI)	7,0 - 9,0	4,7 - 5,1
Força de gel (bloom)	50 - 300	50 - 275
Viscosidade (mps)	20 - 70	20 - 75
Cinzas (%)	0,3	0,5 - 2,0

2.5.1. Formação de gel

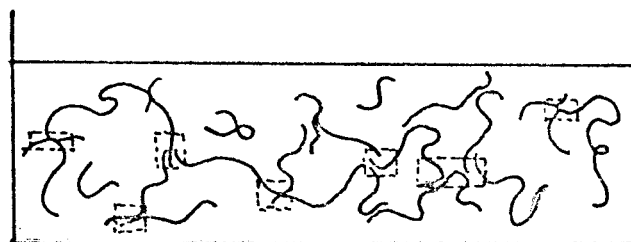
A gelatina forma géis semelhantes àqueles dos carbohidratos pela construção de uma rede microestrutural em concentrações tão baixas quanto uma fração de 1%, pela imobilização de água dentro das malhas da rede estrutu

ral da proteína. Esta rede é insolúvel, embora possa conter muitas vezes mais solvente do que o polímero numa base úmida (30, 36).

A primeira etapa na formação do gel de gelatina é o retorno das regiões não polares da cadeia, que são ricas em resíduos iminoácidos, à configuração ordenada do tipo colágeno. Em seguida, essas áreas estruturadas são conectadas por cadeias peptídicas não organizadas e flexíveis. Em concentração suficientemente alta, para que as áreas efetivas das moléculas se sobreponham, ocorre agregação e/ou formação de gel. No ponto de gel, o sistema forma uma malha contínua, provavelmente devido à formação de ligações entre segmentos ordenados das cadeias (15). A Figura 5 melhor esclarece o que acabamos de relatar.



(a)



(b)

FIGURA 5 - Representação esquemática de orientação das cadeias na formação de gel.

Dois tipos de ligações entre as moléculas polipeptídicas são responsáveis pelo fenômeno de formação de gel:

1º) Valências secundárias, especificamente as ligações de hidrogênio entre os grupos peptídicos, sendo possível que os grupos das cadeias laterais, tais como os grupos sulfidril ou fenol, também participem das pontes de hidrogênio.

2º) Valências primárias, como ligações de pontes de dissulfeto, ligações salinas entre os grupos amino e carboxil das cadeias laterais e ligações cruzadas formadas pelos cátions bivalentes, podendo haver, também, ligações com metais com formação de quelatos (5, 30) e Fig. 6.

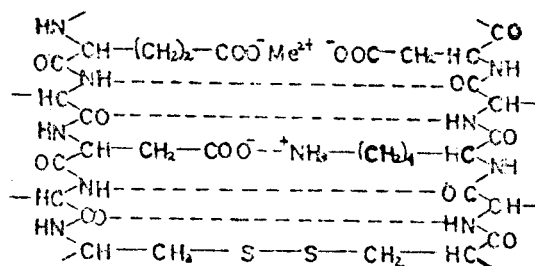


FIGURA 6 - Tipos de ligações cruzadas nos géis de gelatina

A formação de géis reversíveis com o calor é, provavelmente, a propriedade mais importante da gelatina (14, 40).

A força de gel da gelatina é afetada por um grande número de fatores, incluindo o pH, a presença de eletrô-

litos e não eletrólitos. Substâncias tais como a uréia exercem uma ação proteolítica na formação da estrutura do gel, e, em altas concentrações, evitam inteiramente sua formação na gelatina. O efeito da uréia é, provavelmente, o de interferência com as pontes de hidrogênio necessárias para a formação do gel. O efeito de ácidos, bases, calor e enzimas proteolíticas é, essencialmente, o de hidrólise, sendo que a estrutura da gelatina fica tão profundamente modificada que não possibilita mais a formação posterior de gel (30).

A força de gel é uma propriedade que serve para classificar os diversos tipos de gelatina. Sua avaliação é feita mediante o emprego de um penetrômetro especial, chamado "Bloom gelometer". Este instrumento mede a força necessária para comprimir um êmbolo num gel com 6,66% de gelatina a uma profundidade de 4 mm após permanência da solução a uma temperatura de 10°C por 17 horas (11).

Também a textura do gel de gelatina é avaliada pelo emprego de penetrômetros específicos (29).

2.5.2. Viscosidade

A viscosidade produzida por uma solução aquosa de gelatina é também uma propriedade muito importante. Gelatinas comerciais apresentam viscosidade na faixa de 50 a

75 mps. Gelatinas de força de gel mais altas podem ter viscosidades menores do que as amostras de força de gel mais baixas, o que mostra que força de gel e viscosidade não estão diretamente relacionadas (30).

Acima de 35 a 40°C, a viscosidade de soluções de gelatina depende da sua concentração e temperatura, sendo ainda influenciada pelo pH e presença de sais neutros. Na ausência de sais, a viscosidade tem um valor mínimo no seu ponto isoelétrico. Assim que o pH é abaixado ou aumentado, a viscosidade aumenta. Acredita-se que este efeito seja devido à repulsão de grupos ionizados de cargas semelhantes distribuídos ao longo da cadeia. Estas repulsões iônicas são reduzidas na presença de eletrólitos (28).

2.5.3. Intumescimento

A gelatina é insolúvel em água fria, mas intumesce ao contacto com a água e forma grandes partículas visíveis a vista desarmada, conhecidas como "olhos de peixe". A extensão com que a gelatina incha na água é influenciada pela área superficial de contacto, o pH, bem como pela presença de ácidos, bases e sais inorgânicos. Após intumescer, a gelatina passa de uma substância rígida e quebradiça à fofa e flexível.

O mecanismo de intumescimento tem constituído ponto de partida para muitas investigações. Moléculas de longas cadeias, tais como celulose, amido, pectinas, gelatinas

e muitas outras proteínas têm a propriedade de absorver grande quantidade de água. Esta água existe sob dois aspectos: a água ligada e associada com certos grupos da molécula e a água livre contida nos interstícios moleculares.

Os sais afetam o intumescimento da gelatina, alguns inibindo e outros aumentando a absorção de água e próximo do ponto isoeletrico, os géis de gelatina incham mais em soluções salinas do que em água pura (40).

2.5.4. Solubilidade

No preparo de alimentos que utilizam gelatina seca, esta é posta a inchar previamente em pequena quantidade de água fria. Nestas condições, ligações cruzadas entre as cadeias impedem a solubilização total e confinam o intumescimento a um limite definido. Se a água é porém aquecida, a gelatina hidratada formará uma solução devido à ruptura das ligações intermoleculares fracas. Para evitar a formação de gel é necessário manter a solução quente.

A gelatina é solúvel em álcoois poliidrícos, tais como: sorbitol, manitol, propileno glicol e glicerina, sendo, entretanto, praticamente insolúvel em acetona e solventes não polares tais como tetracloreto de carbono, éter de petróleo e dissulfeto de carbono (30).

2.5.5. Turbidez

A turbidez pode ser causada por muitos fatores. Pode ser devida às modificações isoelétricas que ocorrem quando o pH de uma solução está no pI ou próximo deste e, neste ponto, a hidratação das partículas de gelatina é mínima. Esta condição pode ser eliminada ou minimizada pelo ajuste da concentração da gelatina ou, pelo ajuste do pH a um valor inferior ou superior à faixa do pI.

Outra causa de turbidez é devida à mistura de gelatinas de tipos diferentes e que tenham tido pré-tratamento tanto ácido como básico. A adição de sais neutros restaura a claridade, viscosidade e força de gel a valores normais, e seu efeito quantitativo é baseado na valência de seus íons constituintes. Portanto, íons trivalentes são mais efetivos do que íons bivalentes, que são por sua vez, mais eficazes do que os íons monovalentes. Se o pH for ajustado a valores acima ou abaixo do pI de ambas as gelatinas resultará um gel perfeitamente claro.

A turbidez também pode ser devida a impurezas insolúveis se o extrato não tiver sido devidamente filtrado (30).

2.5.6. Cor

A cor da gelatina depende do tipo de matéria prima de que provém e da ordem de extração, isto é, primeira, segunda ou extração subsequente. Gelatinas de pele de suíno são, usualmente, mais claras do que aquelas de ossos.

A extração final de gelatina de ossos contém regular quantidade de material opaco, mas este representa influência pequena sobre as propriedades desta, não prejudicando suas características funcionais (30).

2.5.7. Ação estabilizadora.

A propriedade das gelatinas de estabilizar emul-
sões e espumas é o resultado de sua ação coloidal protetora que permite a formação de uma película ao redor das partículas de ar ou das gotas de água. Des-
ta forma ela estabiliza estes sistemas e tal atividade depende da sua estrutura, sendo muito influenciada, particularmente, pelo pH (30).

2.5.8. Formação de espuma

Quando se agita uma solução de gelatina, ocorre incorporação de ar com consequente formação de espuma e aumento de volume. A formação de espuma é maior no ponto isoelétrico. Neste ponto, as partículas de gelatina têm uma forte tendência para aderir entre si e isso favorece a formação desta. O gel contendo espuma é menos rígido do que o original, devido à incorporação de ar na sua estrutura (30).

2.5.9. Ação corrosiva

Gelatina em solução, mesmo com pH neutro, corroe rapidamente os metais sendo que o ferro é um dos mais

atingidos. Com pouco tempo de contacto, ocorre formação de manchas marron escuras na superfície exposta do ferro, o que ocasiona falha mecânica no metal.

A fim de evitar este inconveniente para a construção dos tanques e demais equipamentos de uma fábrica de gelatina, deve-se usar aço inoxidável, vidro, Teflon ou poliester reforçado com fibras de vidro (33). O mesmo porém não pode ser aplicado à continentes para alimentos como é o caso daqueles contidos em latas de folha de flandres que podem apresentar manchas escuras devido à má qualidade da gelatina empregada, ou então, à combinação de grupos S-S dos aminoácidos com o ferro da lata.

2.6. Deterioração

A gelatina tende a deteriorar-se tanto na forma seca como em solução. A gelatina seca tende a perder a solubilidade com a estocagem, especialmente quando em alta temperatura (35 a 40°C) e umidade elevada. Em solução aquosa, parece sofrer pequena mas progressiva hidrólise a compostos de baixo peso molecular, com aumento da viscosidade e perda do poder gelificante (30). Assim, Tiemstra (48), dá monogramas que podem ser usados para estimar a perda do poder gelificante de uma solução de gelatina sob dadas condições de pH, temperatura e tempo.

As moléculas de gelatina são também suscetíveis à hidrólise enzimática, sendo rapidamente atacadas pelas enzimas proteolíticas. A incorporação de frutas ao natural que contêm enzimas

deste tipo, como abacaxi, mamão e figo, à solução de gelatina, causa rápida perda da propriedade de formação de gel (14).

Veis estabeleceu que a gelatina também pode ser degradada pela clivagem oxidativa das suas cadeias, quando tratada com agentes oxidantes, tais como peróxido de hidrogênio (51).

A gelatina constitui bom nutriente para o crescimento microbiano. Devido ao peso molecular geralmente elevado, mesmo soluções muito concentradas têm pressão osmótica relativamente baixa sendo, portanto, sujeitas ao ataque por microrganismos (33). Daí a necessidade de cuidados especiais no tratamento da matéria prima, bem como na sua elaboração, regra, aliás, válida para todos os alimentos protéicos.

Dependendo das condições e dos constituintes do produto, vários preservativos podem ser adicionados para evitar sua deterioração. Alguns dos preservativos mais comuns são: ácido benzóico, álcool e cloreto cetil-piridínico (30). Todavia, é necessário ter em mente a legislação sanitária e suas implicações neste aspecto, tendo em vista a atual tendência mundial contrária à adição de aditivos químicos a alimentos.

2.7. Legislação

Em vários países, a gelatina alimentar deve satisfazer, da mesma forma que outros produtos alimentícios, a normas higiênicossanitárias estritas, estabelecidas pelas autoridades competentes. A Tabela 4, mostra quais os requisitos que ela deve preencher no Brasil, Alemanha Federal, França, Inglaterra e Estados

Unidos (8, 14, 16, 41, 46).

Estas normas sanitárias visam, principalmente, garantir a sanidade dos produtos comestíveis fabricados com gelatina, como é o caso de geléias, mocotões e sobremesas.

O exame da Tabela 4, denota que, comparado aos outros países, o Brasil apresenta uma legislação bastante tímida neste terreno, e, não ao menos estabeleceu ainda os padrões microbiológicos, como já o fez a Inglaterra. É de se esperar que o novo regulamento federal, em elaboração pelo Ministério da Agricultura, que deverá entrar em vigor brevemente, aborde com mais profundidade, este problema.

TABELA 4 - Principais normas regulamentares para Gelatinas.

Quantidade máxima em	BRASIL	FRANÇA				INGLATERRA		U.S.A.		ALEMANHA FEDERAL	
		Alimentação - categoria nº				FARMACÓPEIA		FARMACÓPEIA		FARMACÓPEIA	
		1	2	3	4	ALIMENTAÇÃO	FARMACÓPEIA	ALIMENTAÇÃO	FARMACÓPEIA	ALIMENTAÇÃO	FARMACÓPEIA
Cinzas	2	3	3	3	3	3,25	3,25	2	2	2	2,5 (sulfatada)
SO ₂	40	50	200	500	200	1000	1000	40	40	400	500
Arsênico	1	1	1,5	1,5	1,5	1	2	0,8	0,8	2	
Cobre			30			30	30			30	
Chumbo			5			5	5	50	50	5	400
Zinco			100			100	100			-	
Ferro			100			-	-			-	
Aeróbios totais		< 10.000						<5000	<5000	<10000	
Escherichia coli								0	0	0	
Escherichiae		<1	<10	<100				0-150		0 - 100	
Anacróbios esporulados sulfito-redutores		< 1								0 - 19	

(1) Recomendações da Deutsche Forschungsgemeinschaft, exceto para SO₂

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material -----

3.1.1. Matéria Prima

Toda a parte experimental deste trabalho foi realizada com pés de aves adquiridos em abatedouro avícola de Barão Geraldo, município de Campinas. Os pés eram provenientes de frangos recém abatidos e foram imediatamente utilizados. As unhas eram retiradas e, em seguida, os pés lavados com água fria a fim de remover os detritos interdigitais. Logo após era feita a desarticulação dos metatarsos com auxílio de uma faca ou outro instrumento cortante. Ao todo, foram utilizados cerca de 50 quilos de tarsos em alíquotas variando de 100 a 1.000 gramas.

3.1.2. Reativos

Para todas as experiências e análises foram utilizados reagentes químicos puros (p.a.) de diversas procedências.

3.1.3. Aparelhos e equipamentos

Além da vidraria e utensílios comuns em laboratório (pipetas, provetas, termômetros, balões volumétricos, balanças, estufa, etc.). Foram também utilizados os seguintes equipamentos e aparelhos de caráter mais espe-

cífico:

Evaporador rotativo "Flash-evaporator"

"Bloom gelometer"

Viscosímetros capilares de tubo em U

Estufa com circulação de ar quente

Secador de tambor ("Drum dryer")

3.2. Métodos

3.2.1. Método de elaboração da gelatina

Os pés de frangos já lavados e cortados foram pesados em quantidades de 1 kg. e deixados de molho à temperatura ambiente, numa solução de ácido clorídrico a 0,3%, por um período de 20 horas. Findo este prazo, o material era novamente lavado com água corrente a fim de se remover o excesso do ácido. Cada amostra do material era então colocada em recipiente de vidro de 2 litros de capacidade, ao qual se juntava um litro de água e o pH era ajustado para 6,0. A gelatina era então extraída em diferentes temperaturas, por tempos variáveis e por quatro vezes sucessivas, conforme a seguir descreveremos:

1a. extração

Os bequers contendo os pés, juntamente com a água eram aquecidos em banho-maria a 60°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) por seis horas --
fase de cozimento.

O material era então coberto com papel de alumínio e agi-

tado periodicamente com auxílio de um bastão de vidro. A porção líquida era separada passando-se o material a través de uma peneira e os sólidos reservados para a e tapa seguinte. O líquido ainda quente, era transferido para funil de separação a fim de extrair a gordura e, a seguir, filtrado em algodão hidrófilo. Ao filtrado e ra adicionado 0,5% de uma mistura de terra diatomáceas e carvão ativado na proporção de 2:1 e, após 20 minutos de contacto, com agitação manual constante, era feita nova filtração. Esta era processada em funil de Büchner forrado com papel de filtro umedecido e adaptado a um kitasato conectado à bomba de vácuo. O filtrado obtido era concentrado em evaporador a vácuo "Flash evaporator", até obter-se um volume correspondente a 30% do valor inicial que era levado a secar em bandejas plásticas, em estufa com circulação de ar à temperatura de 55°C.

2a. extração

Ao resíduo sólido proveniente da primeira extração, adicionava-se nova porção de água em quantidade suficiente para cobri-lo e, este era levado ao banho-maria à temperatura de 70°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) durante aproximadamente 5 horas. O líquido de cozimento desta extração era tratado do mesmo modo que o líquido da primeira extração.

3a. extração

O resíduo da segunda extração era processado de forma idêntica, com alteração apenas da temperatura, que pas

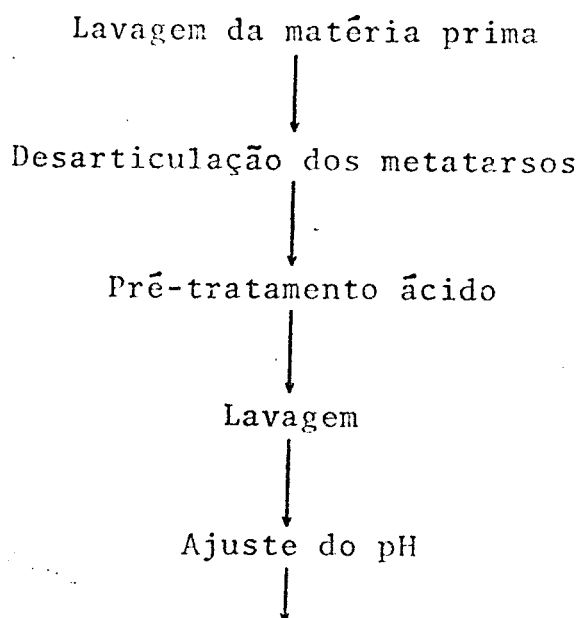
sou a ser 80°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e do tempo de cozimento que foi de 4 horas. O líquido proveniente desta extração era tratado da mesma forma que aqueles das extrações anteriores.

4a. extração

Tratou-se o resíduo resultante da 3a. extração da mesma maneira que aquele das extrações anteriores, mas elevando-se a temperatura a 90°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e mantendo-na durante um período de apenas 3 horas. A porção líquida resultante era processada como as anteriores. As soluções obtidas nas extrações sucessivas foram concentradas, evaporadas e secadas e, as gelatinas obtidas, foram guardadas separadamente, para as posteriores análises de força de gel, viscosidade, pH, cor e transparência. As demais análises foram realizadas sobre a mistura da gelatina proveniente das quatro extrações já descritas.

A seguir é apresentado o fluxograma do método empregado.

FLUXOGRAMA DO MÉTODO DE ELABORAÇÃO DA GELATINA



<u>Extração</u>	<u>Temperatura</u>	<u>Tempo/horas</u>
1a.	60°C	6
2a.	70°C	5
3a.	80°C	4
4a.	90°C	3

↓

Separação da gordura

↓

1a. Filtração

↓

Clarificação

↓

2a. Filtração

↓

Evaporação

↓

Secagem

3.2.2. Análises físicas e químicas

Umidade

A umidade da gelatina foi determinada pelo método descrito no "Modern Food Analysis" (34).

Cinzas

Foram determinadas pelo método descrito pelo A.O.A.C.-23.003 (4).

Proteína

Para a determinação de proteína nas amostras de gelatina foi usado o método descrito pelo A.O.A.C.-2.051, com o fator de Kjeldahl igual a $(N \times 5,55)$ (4).

Força de gel

O método para determinação da força de gel (*) foi aquele descrito pelo British Standard Institution (8).

Viscosidade

As determinações de viscosidade foram feitas em viscosímetros de tubo capilar em U sobre soluções de concentração 6,66% a uma temperatura de 60°C de acordo com o método do British Standard Institution (8).

pH

o pH foi medido em soluções a 1% de gelatina de acordo com o método descrito no "The Chemical Analysis of Foods" pag. 405 (41).

Cor

Por comparação, com uma amostra padrão de cor (*) igual a 10.

Turbidez

Por comparação com uma amostra padrão de turbidez (*) igual a 10.

(*) Estas análises foram realizadas n^{os} Laboratórios gentilmente cedidos pela Liner do Brasil Gelatinas S/A - Cotia - São Paulo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A literatura nacional, ou mesmo a alienígena, não consignam trabalhos específicos para o aproveitamento de pés de aves como fonte de gelatina, exceto, um trabalho publicado na Checoslováquia, do qual obtivemos apenas um resumo (13). Da falta de dados resultaram várias dificuldades na condução do presente ensaio, obrigando-nos a uma série de experimentos preliminares visando estabelecer parâmetros e forma de aproveitamento prático e econômico para a obtenção deste tipo de gelatina.

Os parâmetros utilizados (temperatura, pH de extração, concentração de ácido e tempo de extração) no método de elaboração de gelatina, foram determinados experimentalmente, baseados na revisão bibliográfica e adaptados ao tipo de material usado. Foi escolhido o processo de pré-tratamento ácido por dois motivos:

1. Este processo exige um período relativamente curto de contato do material com o ácido - de 10 a 30 horas (31), comparado ao pré-tratamento alcalino que exige de 1 a 10 meses (40, 41), o que viabilizaria econômica e praticamente seu possível aproveitamento industrial.
2. O tratamento ácido provoca menores modificações na estrutura do colágeno, muito embora ainda permita alguma hidrólise nas ligações peptídicas.

4.1. Determinação da concentração de ácido

e do tempo do pré-tratamento

Informações constantes na literatura consultada, não determinam com exatidão, qual a concentração de ácido a ser usada na etapa do pré-tratamento do tecido colágeno. Segundo alguns autores, a concentração seria de aproximadamente 5% (49), mas, para Morris B. Jacobs (26), esta concentração deveria ser de 0,2%, cifra bastante discrepante e que por si só, justificaria uma investigação a respeito.

Deixando-se a matéria prima em estudo, em solução ácida, observa-se a ocorrência de absorção de água e ácido, com consequente rompimento de algumas ligações da estrutura do colágeno. Todavia, concentração excessiva de ácido deve ser evitada para que não ocorra hidrólise excessiva desta proteína.

Em virtude disto, realizamos experiências preliminares para a determinação da concentração mais adequada e do tempo de contacto mais apropriado desta etapa do processamento. Desta forma, planejamos alguns ensaios tratando amostras, pesando 100 g do material em soluções de ácido clorídrico de concentrações variáveis, à temperatura ambiente. De 4 em 4 horas, o material era retirado da solução, escurrida a água e pesado, observando-se a absorção de água durante um período total de 28 horas.

Estes ensaios mostraram que a solução de ácido clorídrico a 0,3%, proporcionou maior absorção de água após somente 20 horas de contacto, conforme pode ser verificado nos resultados constantes na Tabela 5, a seguir.

Os parâmetros por nós encontrados são, na realidade, diferentes daqueles mencionados para outros materiais visando a obtenção de gelatina, o que, a nosso ver, constitui real contribuição na solução prática deste problema.

4.2. Determinação das condições de extração da gelatina

As condições de pH e temperatura de extração da gelatina são, na maioria das vezes, ditadas pela natureza da matéria prima e do pré-tratamento aplicado mas, normalmente, a extração é efetuada sob condições ácidas ou neutras.

Tendo em conta que as informações sobre a extração da gelatina encontradas na literatura são incompletas, parecendo encerrar segredos de ordem comercial, tornou-se necessário conduzir algumas experiências preliminares, visando esclarecer detalhes a este respeito. Assim, procedemos a uma série de ensaios, a fim de verificar a variação da viscosidade e da turbidez da gelatina em função do pH de extração. Para tanto utilizamos oito amostras de pés de frango, pesando 1 kg cada uma. Estas foram deixadas de molho em solução de ácido clorídrico a 0,3%, por um período de 20 horas. Em seguida, foram lavadas com água fria e o pH ajustado para valores variando entre 3 a 10. Cada amostra foi mantida em banho-maria à

TABELA 5

Absorção de água (g) em função do tempo de contacto e da concentração de ácido clorídrico

TEMPO (h)	ÁCIDO CLORÍDRICO													
	0,0%	0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,5%	0,7%	1,0%	2,0%	3,0%	4,0%	5,0%	7,5%	10,0%
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1,9	7,1	14,3	17,1	17,6	16,0	13,0	8,7	6,0	5,8	3,4	3,9	3,6	- 0,5
8	3,2	9,3	32,8	37,4	35,1	31,6	27,0	21,5	10,9	9,0	5,4	2,9	2,6	- 2,3
12	3,9	22,3	43,2	54,7	53,5	44,9	34,1	25,9	15,5	10,0	6,1	2,7	2,0	- 3,0
16	4,1	23,8	56,1	65,5	62,8	52,6	38,7	27,0	13,0	8,5	3,8	0	- 0,4	- 4,8
20	4,1	24,2	61,4	76,1	70,2	60,4	43,4	27,5	15,4	8,7	3,0	- 0,4	- 1,6	- 5,6
24	4,4	24,7	61,1	75,8	71,4	63,8	46,6	30,1	15,4	8,8	3,5	- 0,6	- 1,8	- 5,6
28	4,2	23,9	60,0	75,2	71,9	64,0	48,8	31,0	16,7	8,8	3,5	- 0,5	- 1,9	- 5,3

temperatura de 60°C, por um período de 6 horas e os extratos foram filtrados, evaporados e secos, separadamente. A viscosidade das frações das gelatinas obtidas, foram testadas após a diluição em água em concentração de 6,6% à temperatura de 60°C. A turbidez foi determinada em géis à mesma concentração de 6,6%. Os resultados constam da Tabela 6 e do Gráfico 1.

TABELA 6

Variação da viscosidade e da turbidez da gelatina em função do pH de extração.

pH	Viscosidade (mps)	Turbidez
3	38	19,0
4	35,8	16,5
5	34	14,5
6	32,5	14,0
7	31,5	17,0
8	31	19,5
9	32	18,0
10	35	19,0

A Tabela 6 e o Gráfico 1, denotam um decréscimo de viscosidade na faixa de pH 3 a 8 e um aumento deste ponto até pH 10. A viscosidade mínima foi observada no pH 8. A turbidez, por sua vez, foi também mais acentuada neste pH, ao passo que no

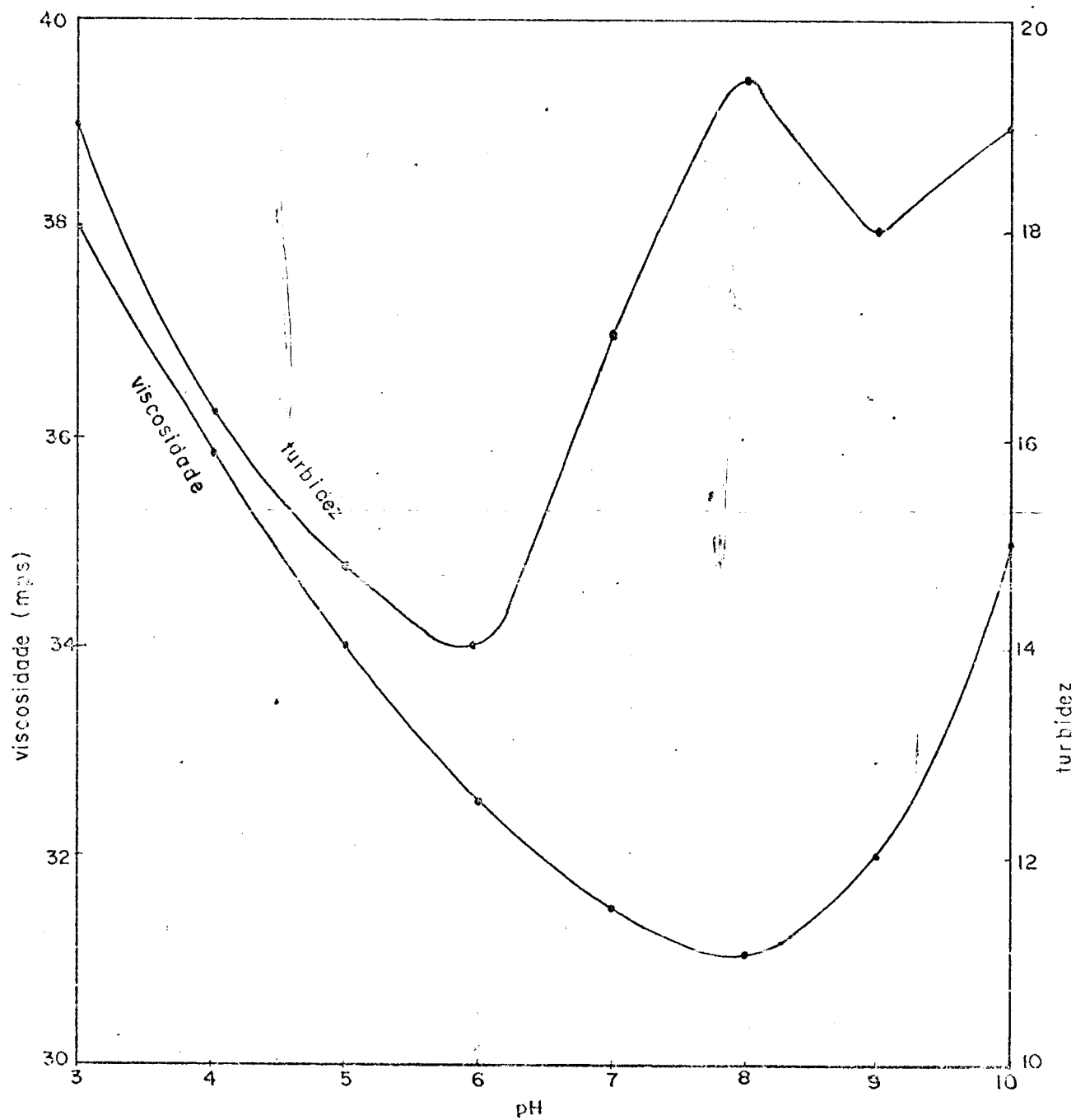


GRAFICO Nº 1 -

variação da viscosidade e da
turbidez em função do pH

no pH 6 constatou-se o melhor resultado, embora ainda distante do valor padrão que é 10, segundo os técnicos da Leiner do Brasil Gelatinas S/A. Para diminuir a turbidez, passamos a estudar a viabilidade da utilização de terra de diatomáceas e carvão ativado. A utilização deste material, na proporção 2:1, respectivamente, e a 0,5% nos forneceu uma gelatina clara e isenta de odor próprio à ave, conforme se constata na Tabela 10, onde se verifica que a turbidez baixou mais ou menos dois pontos superando o valor obtido pela gelatina comercial.

4.3. Efeito da temperatura sobre a força de gel da gelatina

A força de gel de uma gelatina é afetada, principalmente, pela temperatura de extração, conforme se depreende dos resultados apresentados na Tabela 7, que, aliás, confirmam os achados clássicos da literatura (41). A variação em relação ao pH de extração é menos pronunciada, mas existe. As condições do pré-tratamento da matéria prima foram as mesmas das experiências anteriores, com o pH de extração mantido em 5 na primeira série de ensaios e em 6 na segunda. O tempo de extração foi fixado em 8 horas para todos os experimentos. Os resultados foram também apresentados no Gráfico 2, para maior clareza.

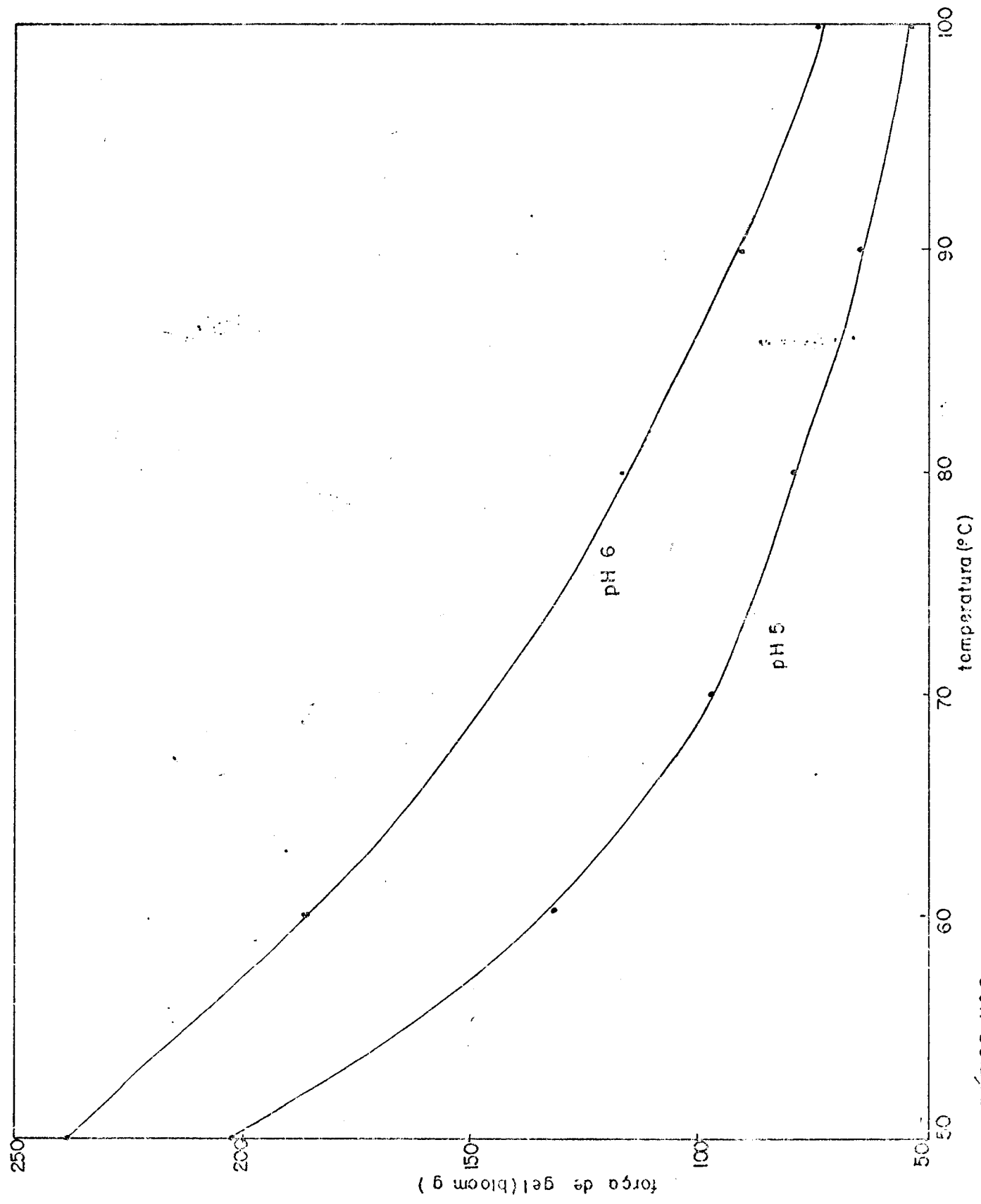


GRÁFICO Nº 2 -
força de gel em função da temperatura

TABELA 7

Estudo da força de gel da gelatina em função da temperatura e do pH de extração

temperatura (°C)	força de gel (bloom g)	
	pH 5	pH 6
50	202	239
60	130	186
70	97	145
80	80	117
90	65	91
100	53	75

Os dados constantes na Tabela 7 e Gráfico 2 evidenciam que as temperaturas excessivas devem ser evitadas, tendo em vista a relação existente entre estas e a baixa força de gel. Estes dados aconselham ainda o uso de temperaturas as mais baixas possíveis, mas suficientes para permitir uma taxa de extração razoável e um alto rendimento em gelatina da qualidade requerida. Os valores mais altos para força de gel foram obtidos em pH 6. Baseados nestes resultados, adotamos o pH 6 como padrão para a etapa de extração para o nosso método de elaboração de gelatina.

4.4. Determinação dos tempos mais adequados para extração de ge- latina em determinadas faixas de temperatura

Nesta etapa de nossos ensaios, tornou-se necessária a determinação da duração de cada uma das etapas sucessivas de extração.

Desta forma, planejamos uma série de experimentos para a qual levamos em consideração o rendimento e a força de gel das gelatinas obtidas. Utilizamos 1 kg de matéria prima para cada ensaio, e esta foi pré-tratada numa solução de HCl 0,3%. Em seguida, lavada para remoção do excesso de ácido e o pH ajustado para 6. Com este propósito, conduzimos cinco experiências variando o tempo de extração de 4 a 8 horas, conforme se vê no Quadro I.

QUADRO I
Variação dos tempos de extração

Nº da Experiência	Tempo de cada extração sucessiva (h)				Tempo Total Extração (h)
	1a. extr. (60-65°C)	2a. extr. (70-75°C)	3a. extr. (80-85°C)	4a. extr. (90-95°C)	
1	4	4	4	4	16
2	5	5	5	5	20
3	6	6	6	6	24
4	7	7	7	7	28
5	8	8	8	8	32

Neste sentido, a Tabela 8 e o Gráfico 3 permitem concluir que o melhor rendimento foi conseguido com o tempo total de 32 horas de extração. Este tempo permitiu a extração de um rendimento total de 16,48%. Todavia, a maior força de gel foi conseguida pela gelatina obtida em um total de 20 horas de extração.

TABELA 8

Rendimento total (%) e força gel (bloom g) em função do tempo de extração

Nº da experiência	Tempo total de extração (h)	Rendimento (%)	Força de gel (bloom g)
1	16	12,61	194
2	20	14,64	198
3	24	15,78	184
4	28	15,01	158
5	32	16,48	120

Não satisfeitos ainda com os resultados de extração obtidos até então, resolvemos encetar mais três experiências, numeradas 6, 7 e 8, onde variamos o tempo de extração de cada etapa, conforme consta do Quadro II.

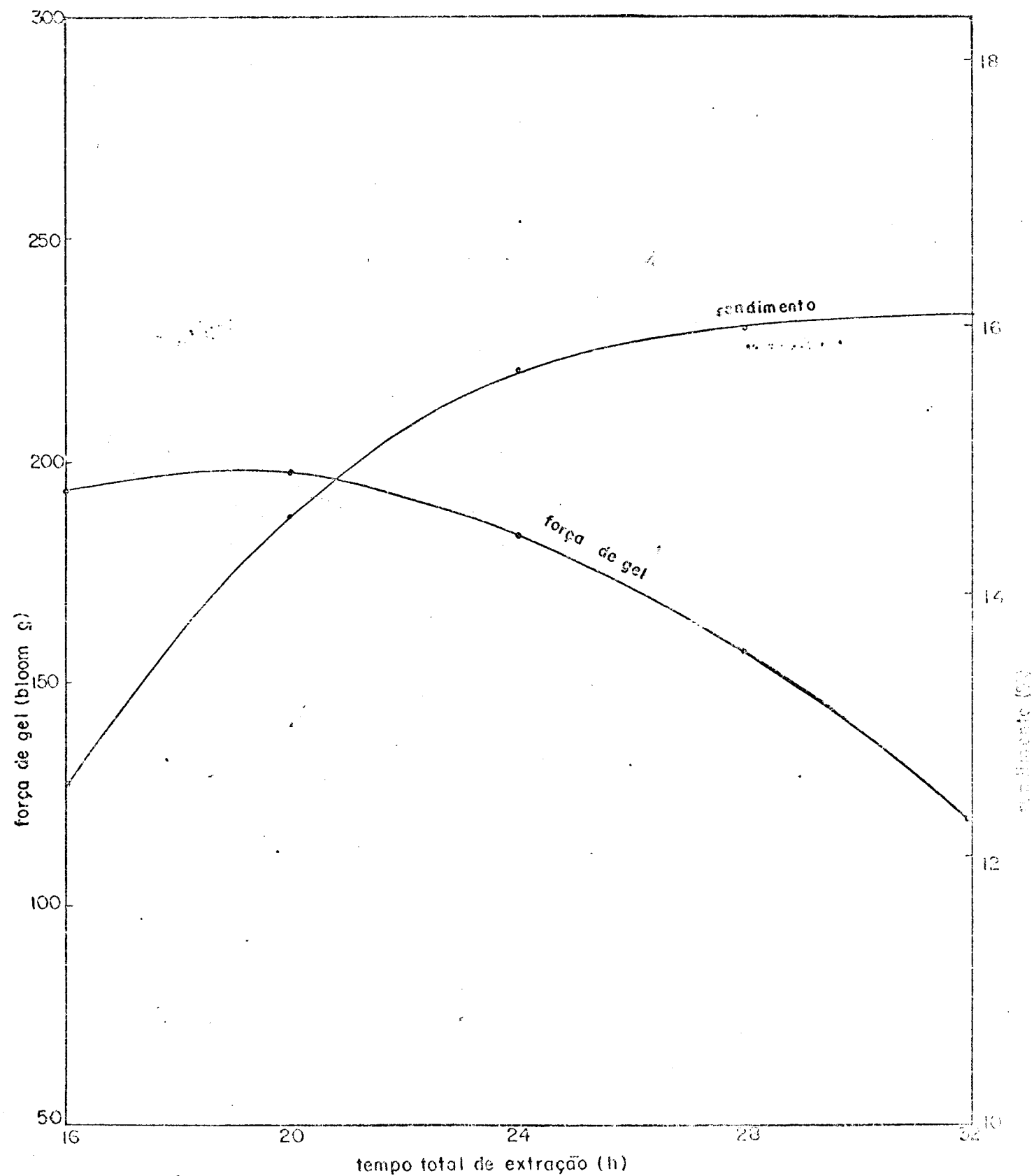


GRÁFICO N° 3 -

rendimento e força de gel em função
do tempo total de extração

QUADRO II

Variação dos tempos de extração

Nº da Experiência	Tempo de cada extração sucessiva (h)				Tempo Total Extração (h)
	1a. extr. (60-65°C)	2a. extr. (70-75°C)	3a. extr. (80-85°C)	4a. extr. (90-95°C)	
6	8	7	6	5	26
7	7	6	5	4	22
8	6	5	4	3	18

O rendimento e a força de gel das gelatinas resultantes das experiências 6, 7 e 8, foram determinados conforme os resultados apresentados na Tabela 9 e Gráfico 4.

TABELA 9

Rendimento (%) e força de gel (bloom g) em função do tempo de extração

Nº da experiência	Tempo total de extração (h)	Rendimento (%)	Força de gel (bloom g)
6	26	15,9	135
7	22	15,6	204
8	18	15,1	245

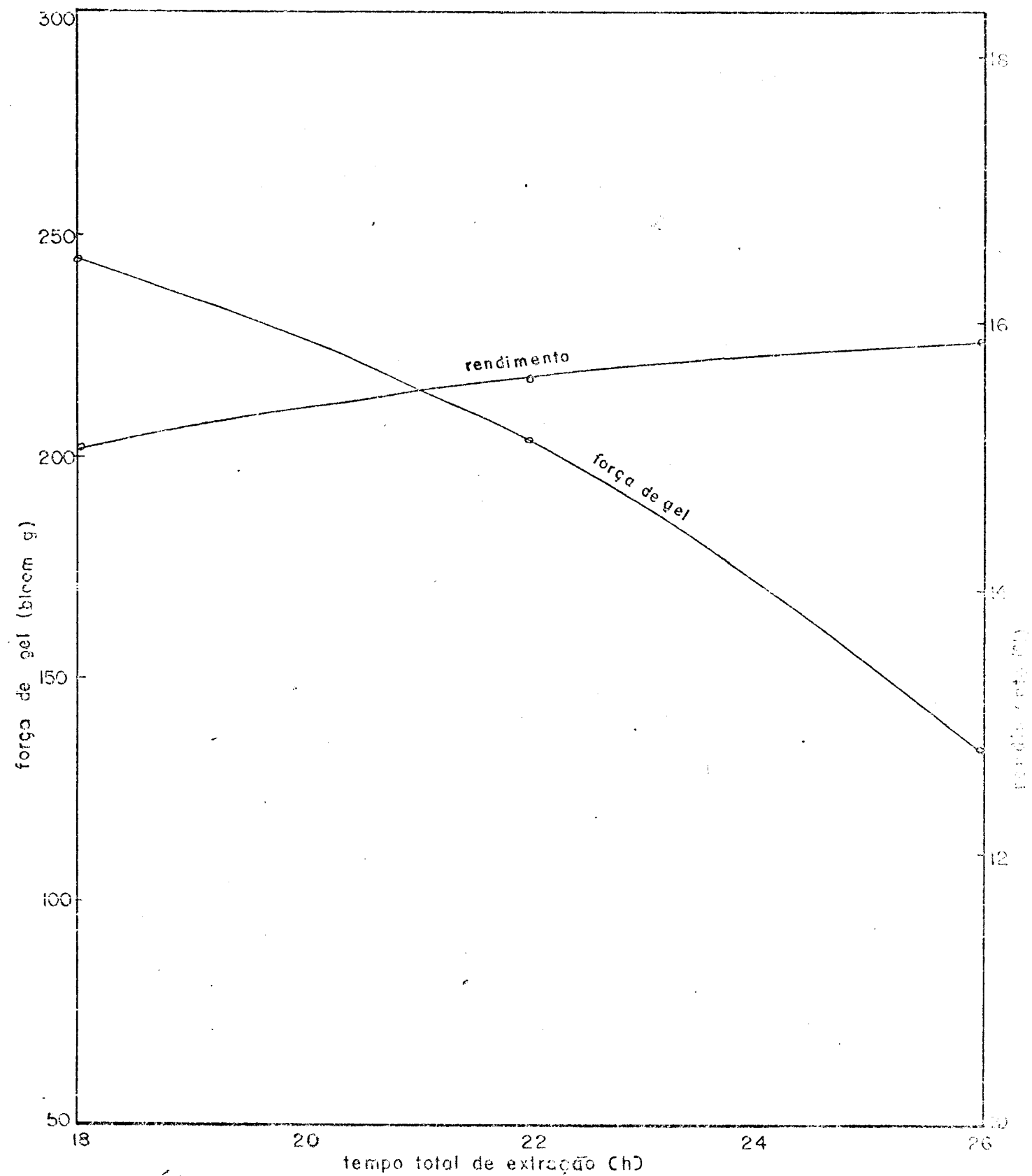


GRÁFICO Nº 4

rendimento e força de gel em função
do tempo total de extração

O rendimento da experiência nº 6 foi levemente superior aos demais. Todavia os resultados encontrados para a força de gel levaram-nos a considerar as condições da experiência nº 8 como os mais indicados para a elaboração da gelatina em estudo.

4.4. Secagem da solução concentrada de gelatina

Esta etapa do processo necessitou de vários ensaios preliminares. Experimentou-se o secador rotativo "drum-dryer" existente na planta piloto da FEA, mas os resultados não foram satisfatórios, provavelmente pela baixa viscosidade da solução de gelatina. Também foram negativos os resultados das experiências efetuadas no túnel de secagem a ar quente a 60°C da mesma planta piloto. A razão deste feito, prende-se a que a temperatura não se mantinha uniforme no interior do túnel e, tampouco, constante durante todo o período de secagem. Além disto, não sendo a superfície interna deste equipamento perfeitamente plana, não foi possível a obtenção de placas de gelatina de espessura uniforme. Consequentemente, a transferência do calor através das camadas de gelatina era irregular, havendo pontos que ficavam mais aquecidos, o que resultou em falta de homogeneidade e alterações no produto final. Por este processo, devido à demora e à falta de uniformidade da secagem, ocorria com frequência a fermentação dos extratos e, consequentemente, perda das amostras.

Experimentou-se então, uma estufa com circulação de ar à temperatura de 55°C e os resultados, desta vez, foram favo-

ráveis. Nesta, obtivemos gelatina seca após um período de secagem de aproximadamente 16 horas, utilizando bandejas plásticas contendo uma camada de solução com altura aproximada de 4 a 5 mm.

4.5. Resultados das análises físico-químicas

Depois de determinados os parâmetros do processo de obtenção de gelatina, preparamos mais cinco partidas para testar a eficiência do método e obtivemos os resultados médios da análise final do produto, constantes da Tabela 10. Estes resultados foram comparados a uma amostra comercial de gelatina, conforme a mesma Tabela.

TABELA 10

Resultados de análises físico-químicas

A n á l i s e	Gelatina de pés de frangos	Gelatina comercial
Umidade (%)	11	12
Cinzas (%)	0,3	0,2
Força de gel (bloom g)	239	201
Viscosidade (mps)	52	47
pH	6,6	5,6
Proteína base seca (%)	82	75
Cor	11	12
Claridade	12	14
Rendimento (%)	15	-

O exame dos dados constantes da Tabela 10, permitem concluir que a gelatina elaborada de pés de aves é comparável, nas suas características, à gelatina comercial, sendo ainda superior em alguns detalhes.

4.6. Resultados dos ensaios microbiológicos

Em se tratando de alimentos para uso humano, é imperativo um exame microbiológico para a avaliação da higiene na elaboração do produto final. Para tal, procedemos a uma contagem global, colimetria e contagem de termófilos de 4 amostras resultantes de cinco partidas diferentes de gelatina por nós e laboradas comparativamente a uma amostra de gelatina em pó adquirida no comércio. A média dos resultados destes exames pode ser assim sumarizada na Tabela 11:

TABELA 11

Resultados médios das análises microbiológicas de 5 amostras de gelatina

	Contagem global	Coliformes	Termófilos
Amostras			
1-2-3-4-5	195 col/g	negativo	125 germes/g
Gelatina			
comercial	6.600 col/g	3.400%	1.300/g

Comparando os resultados das análises microbiológicas das amostras de gelatina por nós elaboradas frente a amostras do comércio, nota-se grande diferença em riqueza microbiana, tanto na contagem global como na de termófilos. Quanto aos coliformes, cuja presença em alimentos para uso humano é sempre indesejável, a amostra de gelatina do comércio mostrou número de contaminantes bastante significativo, ao passo que aquelas por nós elaboradas foram negativas.

Se considerarmos os padrões microbiológicos em vários países, Tabela 4, verifica-se que estes variam de 5.000 a 10.000 para aeróbios totais e de 1 a 100 para coliformes. Nossas amostras de gelatina revelaram uma média de 195 colônias/g para a contagem global e total ausência de coliformes, o que vem indicar tratar-se de produto de excelente qualidade, praticamente isento de contaminação e denotando ainda processamento adequado. Também no que diz respeito a termófilos, as amostras por nós elaboradas, denotaram contagem razoável mas que, provavelmente, poderia ser diminuída, muito embora situe-se melhor do que a amostra comercial.

5. CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho, é lícito concluir:

1. - Os tarsos de aves prestam-se à produção de gelatina comestível.
2. - A melhor concentração de HCl no pré-tratamento do material foi de 0,3%, por período de 20 horas.
3. - A melhor sequência de temperaturas de extração foi de 60, 70, 80 e 90°C, por tempos respectivamente de 6, 5, 4 e 3 horas.
4. - O melhor rendimento para o processo escolhido foi de 15%.
5. - As propriedades físico-químicas do produto final são comparáveis, ou mesmo superiores, às amostras comerciais.
6. - As características microbiológicas da gelatina obtida foram melhores do que a da amostra comercial, denotando ainda total ausência de coliformes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMES, W.M. - The preparation of gelatin. Part I. The function of the lime-soak. J.Soc.Chem. Ind. (London) 63:200-204, 1944.
2. _____ - The preparation of gelatin. Part III. The loss of nitrogen when collagen is converted into gelatin. J.Soc.Chem.Ind. (London) 63:277-280, 1944.
3. _____ - Heat degradation of gelatin. J.Soc.Chem. Ind. (London) 66:279-284, 1947
4. A.O.A.C. - Official Methods of Analysis, 11th ed., Washington, Association of Official Agricultural Chemists, 1970.
5. BEAR, R.S. - The structure of collagen fibrils. Advances in Protein Chem. 7:69-160, 1952.
6. BELLO, J., BELLO, R. & VINOGRAD, J.R. - The mechanism of gelation of gelatin. The influence of pH, concentration, time and dilute electrolyte on the gelation of gelatin and modified gelatins. Biochem. Biophys. Acta 57:214-222, 1962.
7. BOEDTKER, H. & DOTY, P. - The native and denatured states of soluble collagen. J.Am.Chem.Soc. 78:4267-4280, 1956.

8. BRITISH PHARMACOPEIA - London Her Majesty's Stationery Office, 1973. p. 215-216.
9. B.S.I. - British Standard Methods for testing gelatines. B.S. N° 757, London, British Standards Institution, 1959.
10. BRODY, J. - Gelatin and insinglass production. In: Fishery by-products technology, New York, The Avi Publishing Company, 1965. p. 19-25.
11. BRONSON, W.F. - Technology and utilization of gelatin. Food Tecnology 5:55-58, 1951.
12. COURTS, A. - Gelatin and glue liquefies in industry and research. Manuf. Chem. 31:64-65, 1960.
13. _____ - Gelatin emulsions in the formation of micro-capsules. Chemistry and Industry 6:943-946, 1973.
14. DUPORT, L. - Study on gelatin and products based on it. Revue des Fabricants de Confiserie, Chocolaterie, Confiturerie, Biscuiterie 46:23-24, 27, 31, 1971.
15. ELDRIDGE, J.E. & FERRY, J.D. - Studies of the cross-linking process in gelatin gels. III - Dependence of melting point on concentration and molecular weight. J.Phys.Chem. 58:992-925, 1954.

16. FEDERAL SPECIFICATION FOR DESSERT POWDERS AND PLAIN GELATIN.
U.S.C-D-22/a, Superintend of Documents, U.S. Government
Printing Office, Washington D.C. 20402. 1975.
17. GRAND, R.J.A. & STAINSBY, G. - The action of cold alkali
on bone collagen. J.Sci.Fd.Agric. 26:295-302, 1975.
18. GRESER, E. - Preparation of poultry gelatin. Hydinarsky
Priemysel 12:111-120, 1970.
19. GRETTIE, D.P. - Isoelectric points of collagen and gelatin.
J.Am.Leather.Chem.Assoc. 60:572-580, 1965.
20. HALL, C.E. & DOTTY, P. - A comparison between the dimensions
of some macromolecules determined by electron microscopy
and by physical chemical methods. J.Am.Chem.Soc. 80:1269-
-1274, 1958.
21. HAMM, R. - The water imbibing power of foods. Recent
Advanc.Food.Sci. 3:218-229, 1963.
22. HARRINGTON, W.F. & VON HIPPEL, P.H. - The structure of
collagen and gelatin. Advances in Protein Chemistry
16:1-138, 1961.
23. HILL, T.T. - Literature of gelatin. Advanc. Chem.Sci.
73:381-386, 1968.

24. HORMANN, H. - The chemistry of collagen. Leather Sci. (Madras) 16:174-176, 1969.
25. IDSON, B. & BRASWELL, E. - Gelatin, Advanc. Food Res. 7: 235-338, 1957.
26. JACOBS, M.B. - The manufacture of gelatin. In: The Chemistry and Technology of Food and Food Products. 2nd. ed. New York, Interscience Publishers. 1951. p. 2281-2283.
27. JOHNS, C.K. - Bacteriological Analysis of edible gelatin. Food Research 16:281-287, 1951.
28. JONES, R.T. - Pharmaceutical gelatin manufacture. Process Biochemistry 5:17-23, 1970.
29. KAMEL, B.S. & de MAN, J.M. - Evaluation of gelatin gel texture by penetration tests. Lebensm.-Wiss.u.Technol. 8:123-127, 1975.
30. KING, W. - Gelatin. In: Food Science and Technology, New York and London, Academic Press, 1969. p. 359-397.
31. KIRrane, J.A. & GLYNN, L.E. - Aminoacid composition and structure of collagen. International Review of Connective Tissue Research 4:3-7, 1968.
32. KRAMER, F. - Gelatin. How it's made. Food Eng. 39:74-77, 1967.

33. KRAMER, F. - Gelatin. What it is. *Food Eng.* 40:94-95, 1961.
34. LESLIE, F., HART, A.M. & FISHER, H.J. - *Modern Food Analysis*. New York, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1971. p. 149-151.
35. LUNDQUIST, A. - The manufacture of gelatin. In: *Symposium Proceedings. British Food Manufacturing Industries Research Association (B.F.M.I.R.A.)* N° 13:29-34, 1972.
36. MARKS, E.M., TOURTELLOTT, D. & ANDUX, A. - The phenomenon of gelatin insolubility. *Food Technology* 22:1433-1436, 1968.
37. Mc.Clain, P.E., KUNTZ, E. & PEARSON, A.M. - Application of stress-strain behaviour to thermally contracted collagen from epimysial connective tissues. *J. Agr. Food Chem.* 17:629-632, 1969.
38. Mc.WILLIAMS, M. - Gelatin. In: *Food Fundamentals*. New York, Wiley, 1966. p. 153-171.
39. MEYER, L.H. - Connective tissue. In: *Food Chemistry*. 3th ed. New York, Reynold, 1964. p. 174-179.
40. PAUL, P.C. - Collagen gelatin. In: *Food Theory and Application*. New York, Wiley, 1972. p. 134-145.
41. PEARSON, D. - Food standards. Review of Nutrition and Food Science n° 14:10-13, 1969.

42. PEARSON, D. - Gelatine. In: The Chemical Analysis of Food. 6th ed., New York, Chemical Publishing Company, 1971. p. 405.
43. PLOWRIGHT, D.G. - How edible gelatine is produced. Food Manufac. 38:182-187, 1963.
44. PRESTON, B.N. & MEYER, F.A. - Physical Behaviour of gelatin gels. Biopolymers 10:35-46, 1971.
45. RAMACHANDRAN, G.N. - Molecular structure of collagen. The International Review of Connective Tissue Research 1: 127-182, 1963.
46. Regulamentação da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Aprovado pelo Decreto nº 30691 de 29/3/52. Alterado pelo Dec. nº 1255 de 23/6/62. Ministério da Agricultura - D.I.P.O.A.
47. Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater. 3th ed., Washington, APHA.AWWA.WPCF, 1971. p. 672-676.
48. TIENSTRA, P.J. - Degradation of gelatin. Food Technology 22:1151-1153, 1968.
49. TIENSTRA, P.J. - Gelatin Extraction. Canadian Patent nº 851182, 14 pp., 1970.

50. URBAIN, W. - Meat and meat products. In: Chemistry and Technology of Foods and Food Products. 2nd ed., New York, Interscience Publishers, vol. 3, 1951. p. 2247-2285.
51. VEIS, A. - The physical chemistry of gelatin. The International Review of Connective Tissue Research 3:113-194, 1965.
52. VON HIPPEL, P.H. - Collagens. In: The Encyclopedia of Biochemistry, New York, Reinhold Publishing Corporation, 1967. p. 259-260.
53. WARD, A.G. - Recent Advances in gelatin research. Chemistry and Industry, 18:502-505, 1954.
54. _____ - Utilization of tannery waste for gelatine and glue production. Research and Industry (India) 5:239-241, 1960.
55. _____ - The present position in gelatin and glue research. Journal of Phot. Science 9:56-66, 1961.