

## O TEMPO DE PEGA EM GELATINAS COMERCIAIS: UMA EXPERIÊNCIA DA DISCIPLINA DE QUIMIOMETRIA PARA ESTUDANTES DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Thiago Lucena de Macedo Guedes, Maurity Sanderson de Lima Soares, Luiz Seixas das Neves e Kássio Michell Gomes de Lima\*

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 59072-970 Natal – RN, Brasil

Recebido em 29/5/12; aceito em 5/10/12; publicado na web em 18/2/13

INVESTIGATION OF THE SETTING-TIME OF COMMERCIAL GELATINS: AN EXPERIMENT FROM A CHEMOMETRIC COURSE FOR UNDERGRADUATE CHEMISTRY STUDENTS. The aim of this paper is to describe a chemometrics experiment for undergraduate chemistry students using basic concepts of experimental design to determine setting-time of commercial gelatins.

Keywords: experimental design; hardening; chemometrics course.

### INTRODUÇÃO

A quimiometria, segundo a IUPAC,<sup>1</sup> pode ser definida como a aplicação da estatística na análise de dados químicos e planejamento de experimentos químicos e simulações. A aplicação de métodos de calibração multivariada, técnicas de reconhecimento de padrão e planejamentos experimentais para resolução de problemas químicos são alguns dos temas muitas vezes relacionados à quimiometria.

Por outro lado, apesar do crescente uso da quimiometria para resolução de problemas em diversos campos da pesquisa,<sup>2,3</sup> relativamente poucas experiências têm sido apresentadas sobre experimentos didáticos de quimiometria envolvendo alunos de graduação em Instituições de Ensino Superior (IES) brasileiras. Este artigo se propôs a descrever um experimento didático da disciplina de quimiometria do curso de graduação em Química da UFRN.

### APLICAÇÃO: TEMPO DE PEGA EM GELATINAS COMERCIAIS

A gelatina é uma proteína resultante da degradação hidrolítica do colágeno e que não contém glúten, colesterol, gordura ou carboidratos em sua composição. Sua aplicação na indústria e na ciência é crescente, destacando-se os empregos nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e fotográfica. O processo termo-reversível de gelação da gelatina em solução envolve a ordenação das moléculas de gelatina, de forma a tentar reorganizar a estrutura original do colágeno, formando tripla-hélices mantidas unidas por ligações de hidrogênio e que compõem agregados crescentes e interconectados até que todo o volume do sistema seja percolado e o ponto de gelação seja atingido. As propriedades da gelatina que mais chamam atenção para sua utilização são a força gel, as temperaturas de gelação (“pega”) e de derretimento e a sua viscosidade.<sup>4,5</sup>

Algumas características devem ser observadas com relação ao processo de preparação da gelatina, que pode alterar drasticamente as características do produto obtido. Durante a dissolução, os fatores preponderantes serão a distribuição de tamanhos de partículas e a técnica de dispersão e mistura do pó em água.<sup>6,7</sup> Em geral, uma quantidade adequada de água é empregada a temperaturas na faixa de 60 a 80 °C para a adição gradual do pó de gelatina. Dependendo da técnica (ou equipamento) de agitação empregada, uma série de problemas pode surgir, dentre os quais os mais importantes são a

formação de agregados e espumas (que geralmente acarretam perda de força gel); normalmente isso é consequência de longos tempos de dissolução ou das altas energias mecânicas de agitação.

Um dos métodos empregados na caracterização de gelatinas comerciais é a determinação de força gel empregando o gelômetro de Bloom. Esse teste é conduzido em géis de concentração 6,67% endurecidos sob resfriamento a 10 °C por 16 a 18 h; a medida é feita como o peso mínimo necessário para deformar a superfície do sistema em 4 mm.<sup>8</sup> O tempo de gelação é um conceito empregado em algumas áreas da indústria, mas que comumente deixa a desejar em termos de uma definição estrita a ser aplicada de forma ampla, de modo que existe uma arbitrariedade associada ao seu emprego. Desse modo, a determinação da grandeza a ser denominada tempo de gelação requereu uma convenção prévia que se adaptasse ao método aplicado para se estudar a mesma.

### EXPERIMENTAL

#### Preparação das amostras

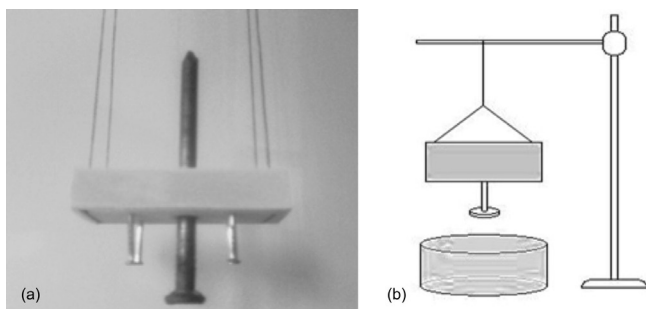
Os estudantes prepararam os componentes da amostra em duas composições distintas (dois níveis) com razões mássicas de gelatina e água destilada de 1:9 e 1:18, cada um deles correspondendo a um volume inicial de 40 mL de solução. Como cada ensaio requer condições distintas, a aleatorização dos mesmos foi necessária para distribuir igualmente a contribuição dos fatores desconhecidos sobre as respostas (de forma que se possam denominar essas contribuições de erros aleatórios) e os ensaios foram realizados um de cada vez, empregando os mesmos recipientes e instrumentos. A solução correspondente a cada ensaio foi preparada em um bquer de 250 mL imerso em outro bquer de 500 mL, de forma a garantir uma temperatura estável nos valores desejados dentro de uma faixa de variação de aproximadamente  $\pm 5$  °C. A agitação foi proporcionada por um agitador magnético funcionando a um terço de sua velocidade de rotação máxima e o período de agitação para cada um dos ensaios foi de 10 min. Após agitação, as emulsões produzidas foram levadas a um banho frio, à temperatura de resfriamento respectiva, e iniciaram-se as medições do tempo de gelação.

#### Instrumentação (homemade)

Um simples instrumento confeccionado pelos próprios estudantes para este estudo consiste de um prego invertido fixado em uma

\*e-mail: kassio@ufrnet.br

base de borracha e suportado por fios de algodão amarrados em uma garra metálica em um suporte universal, de forma a compor uma estrutura suspensiva e consideravelmente estável em termos de equilíbrio mecânico, passível de movimentação vertical. Sendo a massa do instrumento uma grandeza de valor fixo, o seu peso pode ser considerado um parâmetro invariável a ser empregado na convenção da metodologia de estudo do tempo de gelação. O peso aparente do aparato confeccionado fornece a força responsável pela imersão da base (superfície plana) do prego no gel de gelatina em água. O instante em que essa força já não seja suficiente para que toda a base do prego (com uma espessura aproximada de 2 mm) possa imergir no gel (devido à resistência oferecida pela superfície da mesma) foi então definido como sendo o tempo de gelação. As medidas foram realizadas em intervalos de 15 s. A Figura 1 apresenta um arranjo esquemático e uma fotografia mostrando o instrumento confeccionado.



**Figura 1.** (a) Instrumentação desenvolvida pelos estudantes para determinação do tempo de pega; (b) representação esquemática do instrumento

### Planejamento fatorial completo $2^3$

Foi aplicado um planejamento fatorial completo com 3 fatores (temperatura de dissolução da gelatina, temperatura de resfriamento e razão entre as massas de gelatina e água). Cada um dos fatores selecionados para manipulação foi escolhido de forma a ser variado em dois níveis. Os níveis foram escolhidos com base nas informações disponíveis sobre a influência dos fatores no comportamento da gelatina. Para a temperatura de dissolução, foram escolhidos os valores de 55 e 80 °C. Para a temperatura de resfriamento, foram escolhidos os valores de 4 e 14 °C. Para a razão mássica gelatina/água, os valores escolhidos foram 1:9 e 1:18.

As respostas coletadas para cada ensaio e suas respectivas réplicas foram tratadas com base em uma planilha em formato excel, contendo todos os algoritmos básicos do planejamento fatorial  $2^3$ . Por convenção, os valores numericamente maiores para cada um dos fatores foram adotados como os níveis superiores e aqueles numericamente menores, como inferiores. Desse modo, uma matriz de coeficientes de contraste, X, foi montada associando o valor +1 aos níveis superiores e -1 aos níveis inferiores, de modo a dispor em colunas os níveis por fatores e os efeitos de interações (e uma coluna inicial adicional associada à média) e em linhas os ensaios realizados.

A matriz de coeficientes de contraste permite calcular, empregando álgebra matricial, os efeitos correspondentes a cada um dos fatores e suas interações, além da resposta média. Esses efeitos são obtidos ao se pré-multiplicar o vetor resposta, R, pela transposta da matriz de coeficientes de contraste, seguindo-se pela divisão de cada componente do vetor produto, p, por  $2^{(n-1)}$  e pela divisão adicional do primeiro termo por 2 - para um planejamento fatorial  $2^n$ .

$$p = X^t \otimes R \quad (1)$$

Com esses valores determinados, resta obter uma estimativa do

limiar de confiança a partir do qual se pode afirmar que os efeitos estudados são, de fato, importantes na determinação da resposta de interesse. Esse limiar é obtido pelo produto do parâmetro de Student respectivo ( $t_{\alpha}$ , nesse caso) a um dado intervalo de confiança (90, 95 ou 98%) com o desvio padrão para um efeito ( $s_{(\text{efeito})}$ ). O desvio padrão de um efeito é obtido a partir da variância de um efeito, que por sua vez é determinada pela variância de um ensaio, s, calculada com base no produto interno do vetor diferença (d) e no número n de fatores estudados ( $n = 3$ , nesse caso). Para uma análise fatorial  $2^3$ , a variância de um efeito é um quarto da variância de um ensaio. O produto  $t_{\alpha} \cdot s_{(\text{efeito})}$  representa o valor mínimo a partir do qual os efeitos calculados são representativos na obtenção da resposta de interesse para o intervalo de confiança desejado. A Figura 1 mostra a respectiva matriz de coeficientes de contraste.

$$s^2 = \frac{d^t \otimes d}{2 \cdot 2^n} \quad (2)$$

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando-se das respostas coletadas nos ensaios realizados em duplicata e randomizados, os estudantes realizaram uma modelagem fatorial  $2^3$ . A Tabela 1 representa a matriz de planejamento fatorial para os ensaios. Para o cálculo dos efeitos e das interações no experimento, os estudantes escreveram as Equações 3 e 4 (em forma matricial, conforme previamente apresentado) em uma planilha Excel® da Microsoft.<sup>9</sup>

$$\langle y \rangle = \frac{\sum_{i=1}^{2N} y_i}{2N} \quad (3)$$

$$ef_j = \frac{\sum_{i=1}^N y_i^+ - \sum_{k=1}^N y_k^-}{N} \quad (4)$$

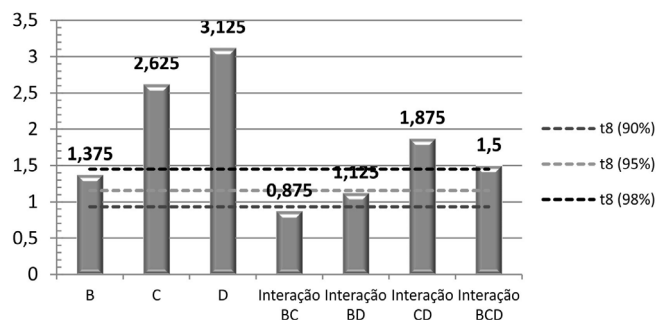
onde  $N = 2^n$  refere-se ao número de diferentes condições de ensaios (nesse caso, 8) e  $y_i$  às observações individuais. A Equação 1 descreve a média de todas as observações, enquanto a Equação 2 descreve o cálculo do efeito para o j-ésimo fator ou interação, usando a diferença entre a soma das respostas dos ensaios em que o fator ou interação de interesse está no nível superior, +1 (representadas por  $y_i^+$ ), e a soma das respostas em que o respectivo fator ou interação está no nível inferior, -1 (representadas por  $y_k^-$ ). Vale notar que, no cálculo da média, um fator adicional de 2 é incluído

**Tabela 1.** Matriz de planejamento fatorial completo. A primeira coluna representa a ordem dos ensaios (a ordem de realização do primeiro ensaio seguido da ordem de realização da réplica)

Experimentos	Fatores		
	$X_1$	$X_2$	$X_3$
	Temperatura de resfriamento (°C)	Temperatura de dissolução (°C)	Proporção gelatina/água
1 2	4	55	1:18
4 8	14	55	1:18
2 6	4	80	1:18
3 7	14	80	1:18
8 1	4	55	1:9
6 4	14	55	1:9
7 3	4	80	1:9
5 5	14	80	1:9

no denominador e no somatório em decorrência do fato de que todos os ensaios foram realizados em replicata. Como na Equação 2 apenas metade do número total de ensaios ( $2 \cdot N$ ) está incluso no cálculo de cada uma das médias a serem subtraídas, os somatórios e o denominador contém o número  $N$ .

Os resultados obtidos para o cálculo dos efeitos entre os fatores investigados e seus respectivos efeitos foram colocados em forma de colunas, conforme mostrado na Figura 2. As linhas em horizontal correspondem aos intervalos de confiança (90, 95 e 98%) calculados. Conforme mostrado na Figura 2, os valores absolutos mais pronunciados para os fatores de interesse foram temperatura de dissolução da gelatina e razão mássica. Para as interações entre dois fatores, o efeito mais pronunciado foi aquele relacionado à temperatura de dissolução (C), razão mássica (D) e, finalmente, o efeito da interação simultânea entre os três fatores foi de 1,5. Dependendo do nível de confiança desejado, os efeitos podem ser numericamente avaliados quanto à sua significância para a obtenção da resposta estudada. Para um nível de confiança de 90%, apenas o efeito da interação entre a temperatura de resfriamento (B) e a temperatura de dissolução (C) é desconsiderável, sendo o único valor absoluto inferior ao limiar de significância de 0,930 ( $s_{\text{efeito}} \cdot t_{8(90\%)}$ ). Para um nível de confiança de 95%, entretanto, a interação entre a temperatura de resfriamento (B) e a razão mássica (D) passa a ser também desconsiderável, por estar, em termos de valores absolutos, quantitativamente abaixo do limiar de 1,155. Se o nível de confiança exigido for de 98%, os únicos efeitos a se pronunciar serão o da razão mássica (D), da temperatura de dissolução (C), da interação entre os mesmos e da interação simultânea entre todos os fatores estudados, estando todos acima do limiar de confiança de 1,45 (Tabela 2).



**Figura 2.** Gráfico de colunas para os efeitos calculados de cada um dos fatores. O comprimento vertical de cada coluna é proporcional à magnitude do efeito (cujo valor aparece acima da coluna respectiva). As linhas pontilhadas representam os limiares de significância ( $s_{\text{efeito}} \cdot t_{8}$ ) para diferentes níveis de confiança (90, 95 e 98%). B: temperatura de resfriamento; C: temperatura de dissolução; D: proporção gelatina/água

A significância desses efeitos (a um nível de confiança de 98%) conduz a uma necessidade de entendimento do que os mesmos representam em termos práticos. Apesar do fato de que os dados coletados na literatura indicam um maior incremento e força gel para gelatinas resfriadas a menores temperaturas durante intervalos de tempo iguais (3), os resultados aparentemente contraditórios com relação a esse efeito mascararam a real importância da temperatura de resfriamento sob condições padronizadas de gelação, uma vez que as medições foram realizadas sem padronização do tempo de resfriamento (já que o tempo era a resposta do experimento) e os ensaios tiveram graus diferentes de diluição da gelatina em água. Além disso, a variação na temperatura de resfriamento foi demasiadamente pequena para que efeitos pronunciáveis pudessem ser detectados. Segundo a literatura,<sup>6</sup> o incremento percentual da força gel é mais pronunciado naqueles com menores concentrações

**Tabela 2.** Respostas coletadas para cada um dos ensaios. A média dos resultados é representada por  $\langle Y \rangle$

Experimentos	Respostas		
	Tempo de pega (min)		
	$Y_1$	$Y_2$	$\langle Y \rangle$
1 2	14,25	11,25	12,75
4 8	8,75	10,50	9,63
2 6	15,00	15,25	15,13
3 7	10,75	11,75	11,25
8 1	11,25	10,00	10,63
6 4	11,75	12,75	12,25
7 3	18,50	18,00	18,25
5 5	13,00	13,25	13,13

de gelatina. Entretanto, os incrementos absolutos nos valores das forças géis são uma função crescente da razão mássica e géis mais concentrados devem apresentar maiores forças e menores tempos de gelação, o que está em concordância com o valor negativo para o efeito da razão mássica. Evidências experimentais revelam que menores temperaturas resultam em um processo de diluição mais eficiente, com pouca formação de aglomerados, enquanto que a temperatura mais altas a dissolução tende a ocorrer rapidamente e com formação de grandes quantidades de aglomerados; entretanto, para o curto intervalo de tempo empregado no processo de dissolução, a velocidade de dissolução é o efeito preponderante, por implicar em maior concentração de gelatina em solução.

Uma vez que a temperatura de dissolução está intimamente relacionada com o processo de diluição da gelatina, é de se esperar que gelatinas diluídas em maiores proporções sejam capazes de percolar de forma mais rápida sob condições de resfriamento adequadas; sendo assim, gelatinas com maiores índices de diluição devem apresentar, em média, menores tempos de gelação, como evidenciado pelo valor negativo do efeito da temperatura de dissolução.

## CONCLUSÃO

A aplicação de planejamentos fatoriais fornece uma ferramenta importante para o estudo e entendimento de experimentos conduzidos em laboratório. Por meio de sua utilização, foi possível aos alunos realizarem experimentos e analisarem seus resultados de forma a se atingir, do ponto de vista pedagógico, resultados superiores aos dos procedimentos padronizados das práticas laboratoriais realizadas no Instituto de Química da UFRN. As discussões ao longo deste experimento permitiram o entendimento de tópicos especiais em quimiometria, especialmente no estudo da formulação e aplicação de metodologias e técnicas quantitativas para análise de respostas de interesse. Além disso, foram elucidados efeitos importantes no comportamento de suspensões de gelatina em água, reforçando os conhecimentos previamente coletados nas bibliografias. O procedimento proposto mostrou-se adequado como prática experimental em uma disciplina de quimiometria para alunos do curso de Química. Este experimento pode ser executado em 2 semanas, desde a confecção do instrumento utilizado para medição do tempo de gelação à construção dos modelos de planejamento fatorial.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível em <http://quimicanova.sbq.org.br>, em arquivo pdf, com acesso livre.

**AGRADECIMENTOS**

À PROGRAD-UFRN, Instituto de Química da UFRN e aos estudantes que cursaram a disciplina de Quimiometria ofertada em 2011.1 nesta instituição.

**REFERÊNCIAS**

1. <http://goldbook.iupac.org/CT06948.html>, acessada em Fevereiro 2012.
2. Neves, A. C. O.; Soares, G. M.; Morais, S. C.; Costa, F. S. L.; Porto, D. L.; Lima, K. M. G.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2012**, *57*, 115.
3. Lima, K. M. G.; Raimundo Jr., I. M.; Pimentel, M. F.; *Sens. Actuators, B* **2011**, *160*, 691.
4. Guo, L.; Colby, R. H.; Lusigna, C. P.; Howe, A. M.; *Macromolecules* **2003**, *36*, 10009.
5. Al-Saidi, G.; Rahman, M. S.; Al-Alawi, A.; Guizani, N.; *J. Therm. Anal. Calorim.* **2011**, *104*, 593.
6. Kravtchenko, T. P.; Parker, A.; Brigand, G.; *Food Hydrocolloids* **1999**, *13*, 219.
7. Larsen, C. K.; Gaserød, O.; Smidsrød, O.; *Carbohydr. Polym.* **2003**, *51*, 125.
8. Carpenter, D. C.; Dahlberg, A. C.; Hening, J. C.; *Ind. Eng. Chem. Res.* **1928**, *20*, 397.
9. <http://www.microsoft.com>, acessada em Março 2012.