

Estudo da Extração e Estabilidade dos Carotenóides em Amostras de Salmão (*Salmo salar*) Cru Resfriado e Congelado Durante o Armazenamento

S. C. Oliveira; A. T. O. Cirilo; V. S. Bastos; A. C. M. S. Aquino; A. A. Castro; N. Narain

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão – SE, Brasil

sheilacris@yahoo.com.br

(Recebido em 27 de dezembro de 2010; aceito em 02 de maio de 2011)

Os carotenóides são pigmentos naturais e solúveis em lipídeos, encontrados principalmente em salmão, sendo a astaxantina o carotenóide responsável pela sua coloração vermelho-alaranjado, e tem uma grande importância na saúde humana por estar associado à redução do risco de doenças degenerativas devido ao seu elevado poder antioxidante. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência de cinco tipos de solventes na extração de carotenóides totais, astaxantina e β -caroteno em amostras de salmão cru fresco, *sashimi*, e durante o armazenamento sob refrigeração e congelamento. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a 6°C por 3 e 6 dias e congelamento a -20°C por 3, 6 e 15 dias. Os solventes avaliados apresentaram eficiências diferentes na extração de pigmentos em amostra de salmão, pela análise estatística se comprova que o melhor solvente, neste estudo, para a extração de astaxantina, carotenóides totais e β -caroteno foi a acetona a 80%, enquanto que o éter de petróleo a 80% se mostrou menos eficiente. Na avaliação dos teores de carotenóides totais observou-se perdas de 28,38% para amostra de salmão cru refrigerado, e 19,00% para a amostra congelada em relação ao salmão cru fresco após 3 dias de armazenamento. Após 6 dias de armazenamento observou-se uma perda de 54,45% na amostra refrigerada e 46,29% na amostra congelada, sendo essas variações estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Não foram observadas variações significativas em relação ao teor de β -caroteno entre as amostras avaliadas no período de 3 e 6 dias nos dois tipos de armazenamento. No teor de astaxantina observou-se a redução nos seus valores de 19,83% para a amostra refrigerada e 17,43% para a amostra congelada após 3 dias, 38,56% e 35,73%, respectivamente, após 6 dias de armazenamento. Conclui-se que houve uma menor redução nos teores dos pigmentos nas amostras de salmão cru armazenadas sob congelamento.

Palavras-chave: *Salmo salar*, carotenóides, astaxantina, β -caroteno.

Carotenoids are fat soluble natural pigments mainly found in salmon. Astaxanthin is the principal carotenoid responsible for its reddish-orange color and it has a great importance in human health as it is associated with reduced risk of degenerative diseases due to its high antioxidant capacity. The aim of this study was to evaluate efficiency of five different solvents on extraction of pigments in fresh salmon and verify the stability of total carotenoids, astaxanthin and β -carotene in fresh raw salmon, *sashimi* during storage under refrigeration and freezing. The samples were stored under refrigeration at 6 °C for 3 and 6 days and frozen at -20 °C for 3, 6 and 15 days. The solvents evaluated showed different efficiencies in the extraction of pigments in salmon, as evidenced by statistical analysis and the best solvent in this study for extraction of astaxanthin, total carotenoids and β -carotene was 80% acetone while 80% petroleum ether proved to be less efficient. In assessing the carotenoid contents, there was a reduction of 28.38% in cooled raw salmon and a reduction of 19.00% in the frozen salmon when compared with raw fresh salmon after 3 days of storage. After 6 days of storage there was a loss of 54.45% in refrigerated sample and 46.29% in the frozen sample, and these variations were statistically ($p < 0.05$) significant. However, no significant changes were observed in relation to β -carotene content among the samples evaluated after 3 and 6 days of storage. The astaxanthin concentration decreased in its values by 19.83% in the refrigerated sample and 17.43% in the frozen sample after 3 days and 38.56% and 35.73%, respectively, after 6 days of storage. It is concluded that there was a lower reduction in these pigments in raw salmon samples during frozen storage.

Keywords: *Salmo salar*, carotenoids, astaxanthin, β -carotene.

1. INTRODUÇÃO

A cor da carne de salmonídeos em especial o salmão (*Salmo salar*) é devido à absorção e fixação de carotenóides oxigenados na sua carne. A astaxantina (3,3'-dihidroxi- β,β -caroteno-4,4'-diona) é um pigmento carotenóide encontrado em animais e plantas marinhas, tais como peixes, camarões e algas [1].

Os carotenóides são pigmentos naturais e solúveis em lipídeos, encontrados principalmente em salmão, sendo a astaxantina o carotenóide responsável pela sua coloração vermelho-alaranjado, e tem uma grande importância na saúde humana por estar associado à redução do risco de doenças degenerativas devido ao seu elevado poder antioxidante. O papel nutricional mais importante e conhecido dos carotenóides, especialmente β -caroteno (β,β -caroteno) é a sua atividade como pró-vitamina A, sendo as pró-vitaminas A as que constituem a maior fonte de vitamina A da dieta alimentar [2].

Os métodos empregados para a extração de pigmentos carotenóides baseiam-se na absorvância e refletância, podendo ser de caráter destrutivo ou não. Entre os métodos destrutivos, os que utilizam solventes orgânicos como a acetona e o éter, são os mais comuns para diferentes tipos de alimentos [3].

Dentre as propriedades físicas e químicas mais importantes dos carotenóides está a solubilidade em lipídeos e em solventes apolares, sendo assim mais facilmente extraído com solventes não polares, e são sensíveis a luz e oxigênio [4, 5].

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência de cinco solventes na extração de carotenóides totais, astaxantina e β -caroteno em amostra de salmão fresco e verificar a estabilidade dos teores dos carotenóides totais, astaxantina e β -caroteno em amostras de salmão cru durante o armazenamento sob refrigeração e congelamento.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Preparação das Amostras de Salmão

As amostras de filés de salmão foram obtidas em um restaurante que comercializa o peixe fresco para “sashimi” em Aracaju, Sergipe. O experimento foi realizado no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Sergipe. Os carotenóides totais, astaxantina e β -caroteno foram extraídos utilizando cinco solventes (acetona 80%; hexano 80%; éter de petróleo 80%; álcool etílico 80% e álcool metílico 80%).

2.2. Análise dos Pigmentos Carotenóides em Salmão

2.2.1. Extração dos Pigmentos Carotenóides em Diferentes Solventes

Foram utilizados dois gramas de amostra de filé de salmão, em seguida foi adicionado 0,2 gramas de carbonato de cálcio e 10ml de solvente (acetona 80%; hexano 80%; éter de petróleo 80%; álcool etílico 80% e álcool metílico 80%) separadamente para cada extração de carotenóides. Cada amostra com um tipo de solvente foi macerada em cadinho de porcelana até a extração completa dos carotenóides, obtendo o extrato, o qual em seguida foi filtrado em balão volumétrico de 25mL envolto com papel alumínio até completar o volume do balão com solvente respectivo. Os pigmentos foram avaliados segundo métodos descritos por Lichtenthaler (1987) para os carotenóides totais e por Lorenze e Jeffrey (1980) para astaxantina e β -caroteno.

2.2.2. Extração dos Pigmentos Carotenóides para Avaliação da Estabilidade Sob Armazenamento

Amostras de filé de salmão contendo dois gramas foram armazenadas sob refrigeração a 6°C por 3 e 6 dias e congelamento a -20°C por 3, 6 e 15 dias. As amostras de filé de salmão fresco, refrigerado e congelado foram analisadas nos respectivos dias de armazenamento com a adição de 10ml do solvente acetona 80% em cadinho de porcelana para extração dos pigmentos

carotenóides. As amostras com acetona 80% foram maceradas nos cadinhos de porcelana até a extração completa dos carotenóides, obtendo o extrato, o qual em seguida foi filtrado em balão volumétrico de 25mL envolto com papel alumínio e completado seu volume com acetona a 80%.

2.2.3. Análise dos Pigmentos Carotenóides por Espectrofotometria

Os teores dos carotenóides totais, β -caroteno, astaxantina e clorofila foram estimados a partir da leitura da absorbância do extrato filtrado no espectrofotômetro (Modelo Micronal- B582) nos comprimentos de onda de 454nm para β -caroteno, 468nm para astaxantina, 470nm para carotenóides totais, 647nm e 663nm para clorofila. Os pigmentos foram avaliados segundo métodos descritos por Lichtenthaler (1987) para os carotenóides totais e por Lorenze e Jeffrey (1980) para astaxantina e β -caroteno.

As concentrações dos teores de carotenóides totais, astaxantina e β -caroteno foram estimados de acordo com as seguintes equações:

$$\text{Clorofila a (Ca)} = [12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8}]$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = [21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}]$$

$$\text{Carotenóides} = [1000 A_{470} - 1,82Ca - 104,96 Cb / 198]$$

$$\text{Astaxantina} = 4,59A_{468}$$

$$\beta\text{-caroteno} = 4,0A_{454}$$

2.3. Análise Estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente pelos programas computacionais, Assistat - versão 7.5 beta e Minitab- versão 14, por Análise de Variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos teores dos pigmentos carotenóides totais, β -caroteno e astaxantina obtidos pela extração com diferentes solventes estão na Tabela 1.

Tabela 1: Teores de pigmentos carotenóides extraídos por diferentes solventes em amostras de salmão.

Solventes (%)	Carotenóides Totais ($\mu\text{g/g}$)	β -caroteno ($\mu\text{g/g}$)	Astaxantina ($\mu\text{g/g}$)
Acetona 80%	0,821 ^a \pm 0,004	0,365 ^a \pm 0,004	0,459 ^a \pm 0,003
Hexano 80%	0,715 ^b \pm 0,001	0,254 ^b \pm 0,000	0,286 ^b \pm 0,002
Éter de Petróleo 80%	0,290 ^c \pm 0,004	0,126 ^d \pm 0,003	0,100 ^d \pm 0,008
Álcool Etilico 80%	0,324 ^d \pm 0,002	0,204 ^c \pm 0,000	0,256 ^c \pm 0,002
Álcool Metílico 80%	0,651 ^c \pm 0,001	0,259 ^b \pm 0,001	0,296 ^b \pm 0,003

Valores médios de 3 repetições \pm desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Os valores médios da extração dos pigmentos pelo solvente acetona 80% foram para carotenóides 0,821 $\mu\text{g/g}$, β -caroteno de 0,365 $\mu\text{g/g}$ e astaxantina 0,459 $\mu\text{g/g}$. O uso da acetona

80%, simultaneamente com o processo de maceração, constitui-se um dos métodos mais difundidos e eficiente para a quantificação de clorofilas e carotenóides.

Avaliando os resultados obtidos pelo teste de Tukey, teste de hipótese $H_0: \mu_i = \mu_j$, sendo $i \neq j$ [8], rejeita-se a hipótese nula, pois p -valor $< 0,05$. Evidenciando assim diferenças significativas entre os solventes. Observa-se que as médias de cada solvente são diferentes para a extração dos pigmentos avaliados, sendo que a acetona 80% apresentou melhor rendimento de todos os pigmentos quando comparado com os demais solventes estudados, conforme apresentando na Figura 1a e 1b. O solvente éter de petróleo obteve a menor média de extração dos carotenóides totais, astaxantina e β -caroteno.

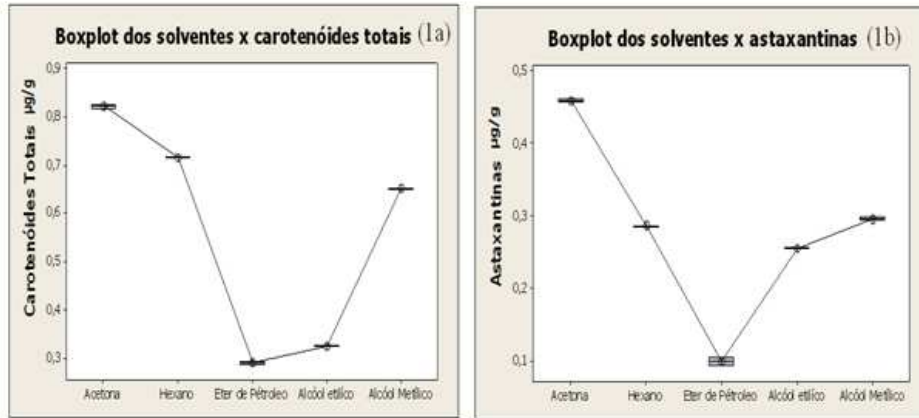


Figura 1a e 1b: Boxplot dos resultados de extração dos carotenóides totais e astaxantinas em diferentes solventes.

Os resultados dos teores dos pigmentos carotenóides totais, β -caroteno e astaxantina das amostras de salmão durante o armazenamento fresco, refrigerado e congelado são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Teores dos pigmentos carotenóides em amostras de salmão durante o armazenamento por refrigeração e congelamento.

Amostras	Tempo (dias)	Carotenóides Totais (µg/g)	β -caroteno (µg/g)	Astaxantina (µg/g)
Salmão Fresco	0	0,821 ^a ± 0,004	0,365 ^a ± 0,004	0,459 ^a ± 0,003
Salmão Refrigerado	3	0,588 ^c ± 0,004	0,302 ^b ± 0,000	0,368 ^c ± 0,000
	6	0,374 ^c ± 0,002	0,112 ^c ± 0,001	0,282 ^e ± 0,000
Salmão Congelado	3	0,665 ^b ± 0,009	0,304 ^b ± 0,004	0,379 ^b ± 0,002
	6	0,441 ^d ± 0,009	0,114 ^c ± 0,001	0,295 ^d ± 0,002
	15	0,330 ^f ± 0,002	0,112 ^c ± 0,001	0,266 ^f ± 0,000

Média ± Desvio padrão; Numa mesma coluna médias com mesma letra não diferem significativamente entre si.

Na tabela 2, avaliando os teores de carotenóides totais observaram-se perdas de 28,38% para amostra de salmão cru refrigerado, e 19,00% para a amostra congelada em relação ao salmão cru fresco no 3° dia de armazenamento. No 6° dia de armazenamento observou-se uma perda de

54,45% na amostra refrigerada e 46,29% na amostra congelada em relação ao salmão cru fresco, sendo essas variações estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Os teores de β -caroteno entre as amostras avaliadas no período de 3 e 6 dias nos dois tipos de armazenamento não apresentaram diferenças significativa, a perda média no 3º foi de 17,00% , no 6º e 15º de 69,00%.

Nos teores de astaxantina observou-se a redução de 19,83% para a amostra refrigerada e 17,43% para a amostra congelada após 3 dias. Em 6 dias de armazenamento a perda foi de 38,56% para amostra refrigerada e 35,73%, para amostras congelada, entretanto, no 15º dia a perda foi de 42% para amostra congelada.

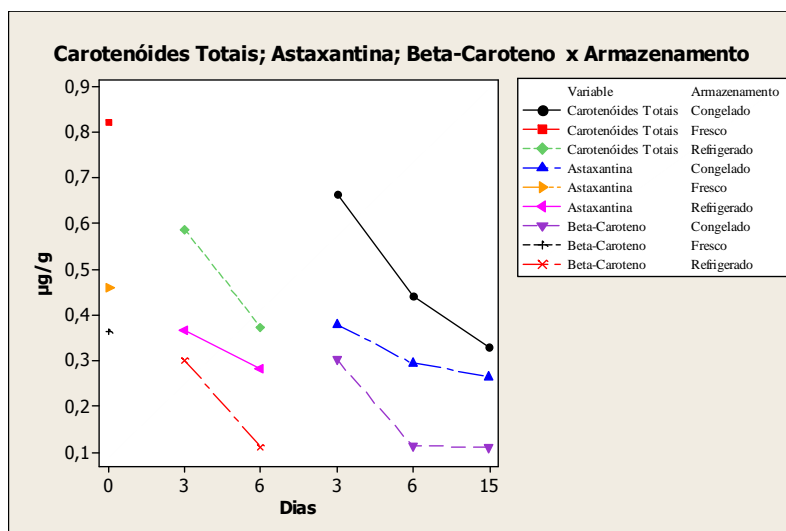


Figura 2: Perda dos pigmentos carotenóides em dois processos de armazenamento (congelado e refrigerado).

4. CONCLUSÃO

Os diversos solventes avaliados apresentaram eficiências diferentes na extração de pigmentos em amostra de salmão. O melhor solvente para a extração de astaxantina, carotenóides totais e β -caroteno foi a acetona a 80%, enquanto que o éter de petróleo a 80% se mostrou o menos eficiente.

Os teores avaliados de carotenóides totais, β -caroteno e astaxantina em salmão resfriado e congelado apresentaram perda em função dos dias de tempo de armazenamento. Conclui-se que houve uma menor redução nos teores de pigmentos carotenóides nas amostras de salmão cru armazenadas sob congelamento.

1. BARRETO, P.L.M; ROTTA, J.; OZÓRIO, R. A. Morphological and physical-chemical characterization of chitosan/astaxanthin microparticules. *Universidade Federal de Santa Catarina – 6th Internacional Symposium on Natural Polymers and Composites*, Gramado, 2007.
2. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenóides e saúde: temas atuais. *Ciências de alimentos: avanços e perspectivas. Faculdade de Engenharia de Alimentos –UNICAMP*. Campinas, 2001.
3. VON ELBE, J. H. Colorantes. In: FENNEMA, O. W. *Química de los alimentos*. 2 ed. Zaragoza: Wisconsin – Madson, 2000.
4. ROUSEFF, R.; NAGY, S. Health and nutritional benefics of Citrus fruits components. *Food Technology*. 48, 125-140, 1994.
5. DURAN, M. G.; MORENO ALVAREZ, M. J. Evaluación de algunas mezclas de solventes en la extracción de carotenóides Del pericarpio de tamarillo (*Cyphomandra Betacea* Sendt). *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, v. 3, n. 1, p.34-38, 2000.

-
6. Lichtenthaler, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: Packer, L., Douce, R. (Eds.). *Methods in enzymology*. London: Academic Press, v.148, p.350-81, 1987.
 7. Lorenzen, C. J; Jeffrey, S.W. Determination of chlorophyll in seawater. Report of intercalibration tests. *Unesco Technical papers in marine science*. 35, 21p, 1980.
 8. MONTGOMERY, D. C. *Design and analysis of experiments*. 5th ed. New York, 2001.