



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA

RAYANNE LEITÃO CLAUDINO

**GELATINA E ASTAXANTINA DE RESÍDUO DO SALMÃO (*Salmo salar L*):
EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE
FILMES ANTIOXIDANTES**

FORTALEZA

2016

RAYANNE LEITÃO CLAUDINO

**GELATINA E ASTAXANTINA DE RESÍDUO DO SALMÃO (*Salmo salar L*):
EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE
FILMES ANTIOXIDANTES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene da Silva Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C553g Claudino, Rayanne Leitão.
Gelatina e astaxantina de resíduo do salmão (salmo salar l): extração, caracterização e aplicação para a produção de filmes antioxidantes / Rayanne Leitão Claudino. – 2016.
69 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2016.
Orientação: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene da Silva Souza.
Coorientação: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho.

1. Salmo salar L.. 2. Gelatina. 3. Astaxantina. 4. Filmes comestíveis. I. Título.

CDD 639.2

RAYANNE LEITÃO CLAUDINO

**GELATINA E ASTAXANTINA DE RESÍDUO DO SALMÃO (*Salmo salar L*):
EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE
FILMES ANTIOXIDANTES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene da Silva Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho

Aprovada em ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho (Co-orientador)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof. Dr. André Luís Coelho da Silva
Universidade Federal do Ceará (Externo)

Aos meus pais, Francisca e Raimundo.

AGRADECIMENTOS

A minha família: Meus pais e minhas irmãs, que são minha base, a quem devo grande parte de tudo isso.

Ao prof. Men de sá Moreira de Souza Filho por toda ajuda. Pelo paizão, amigo e orientador que és.

Ao Prof. Dr Bartolomeu Warlene Silva de Souza pela orientação, apoio e colaboração.

A todos que fazem parte do Laboratório de Tecnologia da Biomassa (LTB) da Embrapa, especialmente à Lílian, Natália, Ana Cassales, Nágila, Edla, Aurélio, Vanessa, Hállison, Vitória, do Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE) da Universidade Federal do Ceará, especialmente ao Diego, Cláudia e Irene. E do Laboratório de Biologia Molecular (LABMOL) especialmente a Vanessa.

A Juliana Rabelo de Sousa, por toda a ajuda neste trabalho

Ao Prof André Coelho, por participar da Banca examinadora

Ao Prof. Jackson de Queiroz Malveira do Laboratório de Referências em Biocombustíveis (LARBIO) da Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará (NUTEC).

A minha amiga/mãe/irmã Emanuella(Manu) por toda a ajuda SEMPRE!

A minha família tradicional brasileira: Meus companheiros Marley e Adson e ao meu filho tobias, que me dão muitas alegrias e só um “pouquinho de trabalho”

A minha amiga Mari, por ser aquela amiga do peito de todas as horas.

Embrapa Agroindústria Tropical pela disponibilização de sua estrutura de laboratórios.

À CAPES, pelo apoio financeiro e a todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“A rapadura é doce, mas não é mole.”

RESUMO

O salmão, *Salmo salar L.* é uma das espécies de peixe mais importadas no nosso país. As indústrias de beneficiamento de pescado geram grandes quantidades de resíduos. No beneficiamento de salmão seus resíduos representam mais de 60% e quando descartados de maneira inadequada pode acarretar grandes prejuízos ao meio ambiente. O colágeno é a principal proteína do tecido conjuntivo, sendo a proteína mais abundante em mamíferos, aves e peixes. Uma utilização comercial do colágeno é a gelatina, obtida pela hidrólise parcial do colágeno. Revestimentos e filmes comestíveis são tipos de proteção que podem ser aplicadas em um alimento. As proteínas estão entre as principais macromoléculas encontradas em filmes comestíveis. O músculo do salmão, também não possuía destino, então, a alternativa é a extração de astaxantina do mesmo, fechando um ciclo de produção com o aproveitamento integral do pescado e inovação de produtos. O objetivo desse trabalho é extrair gelatina a partir de pele e carcaça de salmão (*Salmo salar L.*), extrair astaxantina do músculo do mesmo peixe e produzir filmes a partir das gelatinas extraídas incorporados com a astaxantina. Para a extração da gelatina foram realizadas basicamente cinco etapas (desmineralização, tratamentos ácidos e alcalinos alternadamente e extração em água destilada sob aquecimento). A gelatina extraída foi caracterizada quanto a composição química, minerais, atividade de água (A_w), força de gel, cor, rendimento de extração, calorimetria diferencial de varredura (DSC), termogravimétrica (TGA), espectroscopia no infravermelho (FTIR), distribuição de massa molar e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A formulação do filme foi feita com 3% de gelatina de peixe e 5% de glicerol (em base seca) variando a quantidade de extrato de astaxantina e de ácido tânico. Os filmes foram obtidos por *casting* e caracterizados quanto à permeabilidade a vapor de água, opacidade, cor, e morfologia (MEV). Os filmes obtidos se apresentaram com boa aparência, homogêneos e manuseáveis, com boa transparência e com umidade entre 10,5 e 12%. A adição de astaxantina juntamente com ácido tânico foram efetivos para reduzir a permeabilidade ao vapor de água (PVA), a qual foi reduzida significativamente.

A extração de gelatina a partir desse resíduo pode ser uma nova alternativa, já que a mesma apresenta características favoráveis a uma gelatina de boa qualidade, principalmente devido a boa força de gel; baixa atividade de água; Baixos teores de umidade e cinzas; alto teor de proteínas; cor próxima ao branco e boas propriedades térmicas para usos até 200°C. A

aplicação da gelatina como na produção de filmes mostrou-se efetiva quando adicionados de ácido tânico como reticulante.

Palavras chaves: *Salmo salar L* . Gelatina. Astaxantina. Filmes comestíveis.

ABSTRACT

The salmon, *Salmo salar* L. is one of the fish species most imported in our country. The fish processing industries generate large amounts of waste. In salmon processing waste materials represent more than 60% and when disposed of improperly can cause great harm to the environment. Collagen is the main protein of connective tissue and is the most abundant protein in mammals, birds and fish. A commercial collagen used is gelatin, obtained by partial hydrolysis of collagen. Coatings and films are edible types of protection that can be applied in a food. Proteins are among the major macromolecules found in edible films. The salmon muscle, also had no destination, then the alternative is astaxanthin extraction of it, closing a production cycle with the full use of fish and product innovation. The aim of this study is to extract gelatin from skin and salmon carcass (*Salmo salar* L.), astaxanthin extract of the same fish muscle and produce films from the extracted gelatins incorporated with astaxanthin. For the extraction of gelatin were performed essentially five steps (demineralization, acid and alkali treatments alternately and extraction in distilled water under heating). The extracted gelatin was characterized as the chemical composition, minerals, water activity (A_w), gel strength, color, extraction yield, differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric (TGA), infrared spectroscopy (FTIR), distribution molar mass and scanning electron microscopy (SEM). The formulation of the film was made with 3% fish gelatin and 5% glycerol (dry basis) varying the amount of astaxanthin and tannic acid extract. The films were obtained by casting and characterized according to their permeability to water vapor, opacity, color and morphology (SEM). The films were presented with good looks, homogeneous and manageable, with good transparency and moisture between 10.5 and 12%. The addition of astaxanthin with tannic acid was effective in reducing the permeability to water vapor (PVA), which was reduced significantly. The extraction of the gelatin from this residue may be a new alternative, because it displays characteristics favorable to a good quality gelatin, mainly due to good gel strength; low water activity; Low moisture and ash content; high protein content; next color to white and good thermal properties for uses up to 200°C. The application of gelatin as in film production was effective when added tannic acid as cross-linking.

Key words: *Salmo salar* L. Gelatine. Astaxanthin. edible films.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Salmão, <i>Salmo salar</i> L.	3
Figura 2	Fluxograma geral do beneficiamento de peixe	5
Figura 3	Estrutura do colágeno: (a) tropocolágeno; (b) cadeia α ; (c) forma de triplete	6
Figura 4	Estrutura básica da gelatina e principais aminoácidos presentes na gelatina.	7
Figura 5	Estrutura básica dos carotenóides	9
Figura 6	Mecanismo de ação antioxidante da astaxantina em membranas biológicas	10
Figura 7	Equação 1 utilizada para cálculo de rendimento de extração	14
Figura 8	Equipamento para análise de Atividade de água (A_w).	15
Figura 9	Texturômetro Stable micro system TA-XT2i	16
Figura 10	Representação esquemática do sistema de coordenadas de Hunter para avaliação de cor.	16
Figura 11	Cuba eletroforética.	17
Figura 12	Equipamento utilizado na análise de DSC.	18
Figura 13	Equipamento utilizado para análise Termogravimétrica (TGA)	19
Figura 14	Equipamento utilizado para análise de Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).	20
Figura 15	a) Salmão fresco; (b) Salmão liofilizado.	22
Figura 16	Equação 2 utilizada para o cálculo da Concentração de Astaxantina	23
Figura 17	Equação 3 utilizada para o cálculo da Atividade Antioxidante	24
Figura 18	Equação 4 para o cálculo de Permeabilidade a vapor d'água	27
Figura 19	Análise de distribuição de peso molecular por eletroforese, para a gelatina de pele e carcaça	32
Figura 20	Análise de calorimetria diferencial de varredura realizada até a temperatura de 400°C da gelatina em pó de pele de Salmão (<i>Salmo salar</i> L.).	34
Figura 21	Análise de calorimetria diferencial de varredura realizada até a temperatura de 400°C da gelatina em pó de carcaça de Salmão (<i>Salmo salar</i> L.).	35
Figura 22	Análise termogravimétrica da gelatina em pó de pele do Salmão (<i>Salmo salar</i> L.)	36

Figura 23 Análise termogravimétrica da gelatina em pó de carcaça do Salmão (<i>Salmo salar L.</i>)	37
Figura 24 Espectro de FTIR para a amostra de gelatina em pó de pele de salmão (<i>Salmo salar L.</i>)	38
Figura 25 Espectro de FTIR para a amostra de gelatina em pó de carcaça de salmão (<i>Salmo salar L.</i>)	39
Figura 26 Difração de Raio X para a amostra de gelatina de pele de salmão(<i>Salmo salar L.</i>)	41
Figura 27 Difração de Raio X para a amostra de gelatina de carcaça de salmão <i>L.</i>)	42
Figura 28 Micrografias da gelatina, obtidas por MEV da pele e da carcaça.	43
Figura 29 Amostra de filme de gelatina de pele de salmão sendo removida do mylar	48
Figura 30 Efeito da concentração de ácido tânico e astaxantina sobre a permeabilidade a vapor de água de filmes de gelatina de pele de salmão (<i>Salmo salar L.</i>).	49
Figura 31 MEV Filmes Pele de gelatina de salmão sem reticulação. Microscopia face e transversal, respectivamente	51
Figura 32 MEV Filmes Pele de gelatina de salmão com reticulação. Microscopia face e transversal, respectivamente	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tratamentos dos filmes de gelatina de pele de salmão (<i>Salmo salar L.</i>).	25
Tabela 2	Composição Química do resíduo de salmão (<i>Salmo salar L.</i>) e da gelatina extraída do resíduo do salmão.	29
Tabela 3	Parâmetros de Cor das gelatinas de pele e carcaça de salmão (<i>Salmo salar L.</i>).	31
Tabela 4	Minerais presentes no resíduo da carcaça de salmão, após a extração da gelatina.	33
Tabela 5	Atribuição das bandas de absorção do espectro de FTIR.	40
Tabela 6	Composição centesimal do salmão fresco.	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Aquicultura Mundial	1
1.2	Salmão (<i>Salmo salar</i> L.)	1
1.3	Processamento do Pescado.....	4
1.4	Colágeno e Gelatina	5
1.5	Carotenóides e Astaxantina.....	8
1.6	Filmes comestíveis	11
2.	METODOLOGIA	12
2.1	Obtenção da matéria-prima	12
2.2	Extração da Gelatina	13
2.3	Caracterização da Gelatina.....	13
2.3.1	Rendimento de Extração.....	14
2.3.2	Composição Química	14
2.3.3	Atividade de Água (A_w).....	14
2.3.4	Força Gel	15
2.3.5	Colorimetria.....	16
2.3.6	Análise de distribuição de massa molar	16
2.3.7	Determinação de Minerais.....	17
2.3.8	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	18
2.3.9	Termogravimetria (TGA)	19
2.3.10	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	19
2.3.11	Difração de raio X (DRX)	20
2.3.12	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	21
2.3.13	Análise de aminoácidos	21
2.4	Matéria-prima para a obtenção do carotenóide astaxantina	21
2.4.1	Composição Química da matéria-prima	22
2.4.2	Extração da Astaxantina	22
2.5	Caracterização da do Extrato.....	22
2.5.1	Determinação Analítica da Astaxantina	22
2.5.2	Colorimetria.....	23

2.5.3	Composição de ácidos graxos presentes no extrato.....	23
2.5.4	Atividade antioxidante do extrato.....	24
2.6	Preparação dos Filmes.....	25
2.7	Caracterização dos Filmes.....	26
2.7.1	Espessura e aspecto visual.....	26
2.7.2	Umidade.....	26
2.7.3	Permeabilidade a Vapor de água (PVA).....	26
2.7.4	Colorimetria.....	27
2.7.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	28
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
3.1	Extração e caracterização da gelatina.....	28
3.1.1	Rendimento de extração	28
3.1.2	Composição química	29
3.1.3	Atividade de água (Aw).....	30
3.1.4	Força de gel	30
3.1.5	Colorimetria.....	31
3.1.6	Análise de distribuição da massa molar	32
3.1.7	Determinação de Minerais	32
3.1.8	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	33
3.1.9	Análise Termogravimétrica (TGA)	35
3.1.10	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	38
3.1.11	Difração de raio X (DRX)	41
3.1.12	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	42
3.1.13	Análise de aminoácidos	Error! Bookmark not defined.
3.2.	Composição Química do Salmão (<i>Salmo salar L.</i>).....	43
3.2.1	Extração da Astaxantina	44
3.2.2	Rendimento de extração da astaxantina.....	45
3.2.3	Colorimetria.....	45
3.2.4	Composição de ácidos graxos presentes no extrato de astaxantina.....	45
3.5.4	Atividade Antioxidante da Astaxantina.....	47
3.6.	Caracterização dos Filmes.....	47
3.6.1	Espessura e aspecto visual.....	47
3.6.2	Colorimetria.....	48

3.6.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	48
3.6.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos Filmes.....	50
4 CONCLUSÃO	51