

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO TECNOLÓGICO
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MANOEL LUIZ ANDRADE DA SILVA

**EXTRAÇÃO DE CORANTES DE URUCUM (*Bixa
orellana L.*) UTILIZANDO SISTEMA DE
RECIRCULAÇÃO DE SOLVENTES**

Belém-Pará
2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO TECNOLÓGICO
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

MANOEL LUIZ ANDRADE DA SILVA

**EXTRAÇÃO DE CORANTES DE URUCUM (*Bixa
orellana L.*) UTILIZANDO SISTEMA DE
RECIRCULAÇÃO DE SOLVENTES**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Lênio José Guerreiro de Faria

Belém-Pará
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Setorial do Curso de Mestrado em Engenharia Química

Silva, Manoel Luiz da

Extração de corantes de urucum (*Bixa orellana* L.) utilizando sistema de recirculação de solventes / Manoel Luiz Andrade da Silva, orientadores, Lênio José Guerreiro de Faria. _ 2006.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Centro Tecnológico, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2006

1.Urucum 2. Corante- extração 3. Extração por solvente 4 Extração (Química) I. Título

CDD 22 660.284248



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO TECNOLÓGICO
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

MANOEL LUIZ ANDRADE DA SILVA

**EXTRAÇÃO DE CORANTES DE URUCUM (*Bixa orellana* L.)
UTILIZANDO SISTEMA DE RECIRCULAÇÃO DE SOLVENTES**

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Lênio José Guerreiro de Faria
DEQAL/CT/UFPA.-Orientador

Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
DEQAL/CT/UFPA.-Membro

Dra. Ana Vânia Carvalho
Embrapa Amazônia Oriental-Membro

Aos meus pais, meus primeiros
e eternos mestres.
Aos meus irmãos.
A minha esposa e aos meus
filhos

AGRADECIMENTOS

A Deus, o grande mestre, que todos os dias me ensina pacientemente que a ciência só tem sentido se acompanhada de fé, esperança, e principalmente de amor.

Ao meu orientador, Professor Lênio José Guerreiro de Faria, pelos incentivos e conhecimentos a mim repassados e pela amizade.

Ao estagiário Marco Rogério Scienza pelo auxílio durante os experimentos e análises. Ao amigo mestrando Neilton Silva Tapajós, pela colaboração durante os testes preliminares. Ao Amigo Nelson Rosa Ferreira, pela edição das fotos deste trabalho. Aos meus amigos e colegas de mestrado, pelo apoio e troca de idéias.

Ao Sr. Antônio Rodrigues de Macedo, pela construção do aparato de extração.

À banca examinadora, pela avaliação e correção deste trabalho. Aos professores do PoGAL pelos conhecimentos a mim transmitidos.

Ao Sr. Ferdinando Cardoso Nascimento que trabalhou na colheita e beneficiamento das sementes.

À Dra. Marli Costa Poltronieri, da Embrapa Amazônia Oriental, que gentilmente cedeu as amostras de urucum, cujas sementes foram utilizadas neste trabalho.

À Coordenação do Pogal pela tolerância e compreensão. Aos secretários do Pogal, Alonso de Andrade Rodrigues e Fabrício Evangelhista Corrêa pela atenção e auxílio nos momentos que precisei.

Ao secretário do LEQ, Sr. Wilson Nazaré de Castro pela companhia nas noites de trabalho no LEPRON. Ao Técnico Mário de Souza Carneiro e à estagiária Mônia Maria Carvalho da Silva, que colaboraram nas análises químicas. Aos bolsistas e funcionários do LAOS, pela colaboração nos momentos em que deles precisei.

A CAPES, pelo apoio financeiro, sem o qual não seria possível a continuidade deste trabalho, e à Universidade Federal do Pará, pela oportunidade dada a mim de fazer este curso e pela cessão das instalações para a execução deste trabalho.

Nossos triunfos são medidos pela nossa tenacidade em prosseguir na luta e pela habilidade com que somos capazes de submeter nossas paixões, sentimentos e emoções ao domínio da nossa inteligência e assim, força-los ao serviço dos nossos ideais

Alberto Montalvão

RESUMO

Realiza-se a otimização estatística do processo de obtenção de corantes em pó, a partir de grãos de urucum (*Bixa orellana* L.), utilizando-se um protótipo de extrator por recirculação de solventes. São empregadas as variáveis de entrada: soluções de KOH, tempo de extração e relação volume de solvente e massa de sementes e as variáveis de resposta: rendimento em massa de corante e rendimento em bixina. A análise dos dados é realizada com base na metodologia de superfícies de resposta, a partir de um planejamento fatorial completo, em dois níveis, com auxílio do aplicativo Statistica 5.0. Quantifica-se a influência das variáveis de entrada no processo nas variáveis de respostas consideradas e identifica-se o ponto ótimo. Verifica-se que o rendimento em massa de corante pode ser estimado por um modelo de primeira ordem, em função das variáveis de entrada estatisticamente significativas. O rendimento em bixina pode ser estimado por meio de um modelo polinomial de segunda ordem. Avalia-se a estabilidade da bixina em função do teor de cinzas presente na massa de corante.

ABSTRACT

It is become statistics optimization of the extraction process of colorants in dust, from annatto seeds (*Bixa orellana* L.), using an recirculation of solvent extractor. The variable of entrance solutions of KOH, extraction time and relation solvent mass and volume of seeds and the responses are used yield in colorant mass and yield in bixin. The data analysis is carried on the basis of the response surfaces methodology, from a complete factorial desing in two levels, with aid of software Statistica 6.0. It is quantified influence of the variable of entrance in the process in the responses variables and the optimal point is identified to it. It is verified that the yield in colorant mass can be fitted by a first order model, in function of the significant entrance variable. The yield in bixin can be fitted by polynomial second order model. It is evaluated stability of the bixin in function of the ashes in the colorant mass.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Estrutura química de alguns carotenóides.....	23
Figura 2.2	Cápsulas (cachopas) de urucum abertas e fechadas.....	25
Figura 2.3	Estrutura molecular da bixina, $C_{25}H_{30}O_4$, (PM=394,51)	34
Figura 2.4	Estrutura molecular da norbixina $C_{24}H_{28}O_4$ (PM=380,48).....	35
Figura 2.5	Esquema da acidificação do extrato alcalino do corante das sementes de urucum.....	42
Figura 2.6	Processo de extração de pigmentos de urucum utilizando álcool etílico.....	43
Figura 2.7	Processo de extração de corante de urucum através de soluções alcalinas.....	44
Figura 2.8	Processo de extração de bixina utilizando óleo comestível como solvente.....	44
Figura 3.1	Varredura de uma amostra de norbixato de potássio em solução alcalina.....	58
Figura 3.2	Aparato experimental utilizado na extração de norbixina.....	60
Figura 3.3	Fluxograma de obtenção de norbixina em pó.....	61
Figura 4.1	Fotos comparativas entre grãos obtidos de amostras comerciais e grãos da EMBRAPA	68
Figura 4.2	Diagrama de Pareto dos efeitos estimados (padronizados) para a resposta $R_m(\%)$	71
Figura 4.3	Análise de resíduos para a resposta rendimento em massa.....	74
Figura 4.4	Superfície de resposta para as variáveis X_1 e X_2 , mantendo X_3 no ponto central.....	74
Figura 4.5	Curvas de nível para a resposta rendimento em massa.....	75
Figura 4.6	Diagrama de Pareto para os efeitos estimados (padronizados) para a resposta $B_i(\%)$	76

Figura 4.7	Análise de resíduos para a resposta rendimento em bixina.....	78
Figura 4.8	Superfície de resposta para a variável de resposta $B_i(\%)$	79
Figura 4.9	Curvas de nível a resposta $B_i(\%)$	79
Figura 4.10	Superposição das curvas de nível das regiões de otimização R01 e R03 para $B_i(\%)$, e R02 para $R_m(\%)$	81
Figura 4.11	Demonstrativo da relação entre $B_i\%$, percentual de cinzas e percentual de outros constituintes presentes em produtos obtidos.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Caracterização de sementes de urucum para diferentes cultivares.....	26
Tabela 2.2	Teores de bixina determinados em diferentes cultivares no Estado do Pará.....	27
Tabela 2.3	Classificação de grãos de urucum, segundo suas características físico-químicas.....	29
Tabela 2.4	Diâmetro médio (Dp) de grãos de urucum reportado na literatura.....	30
Tabela 2.5	Peso (em gramas), média por cápsulas e teor de bixina, de grãos de urucum, reportados na literatura.....	31
Tabela 2.6	Composição química (base úmida) dos grãos de urucum reportada na literatura.....	32
Tabela 2.7	Fórmula e peso molecular dos principais pigmentos do urucum	34
Tabela 2.8	Solubilidade da Bixina e Norbixina em solventes orgânicos	36
Tabela 2.9	Solubilidade de bixina em solução aquosa de NH ₄ OH e de NaOH.....	36
Tabela 2.10	Ingestão Diária Aceitável (IDA), recomendada pela FAO/WHO, para os diversos tipos de extratos de urucum.....	39
Tabela 2.11	Tempo de meia-vida de extratos: etanólico, oleoso e alcalino, submetidos a diversas condições de estocagem.....	48
Tabela 2.12	Usos de corantes de urucum em alimentos.....	50
Tabela 2.13	Usos de extratos de urucum em alimentos.....	51
Tabela 3.1	Análises químicas dos grãos, métodos e referências.....	56
Tabela 3.2	Pontos máximos de absorbância para amostras de norbixato de potássio em solução alcalina, na faixa de 450 a 560 nm	58

Tabela 3.3	Variáveis e níveis para a otimização da obtenção de norbixina.	63
Tabela 3.4	Matriz de Planejamento para otimização da extração.....	64
Tabela 4.1	Caracterização física dos grãos de urucum	66
Tabela 4.2	Composição centesimal de amostras dos grãos de urucum utilizados nas extrações.....	67
Tabela 4.3	Matriz de experimento com base na MSR.....	69
Tabela 4.4	Efeitos principais e interações observadas na análise de Rm(%).....	70
Tabela 4.5	Análise de Variância (ANOVA) para a resposta Rm(%).....	71
Tabela 4.6	Coeficientes de regressão para os rendimentos em massa.....	72
Tabela 4.7	Efeitos principais e interações observados na análise de Bi(%)	76
Tabela 4.8	Análise de Variância (ANOVA) para resposta Bi(%).....	77
Tabela 4.9	Coeficientes de regressão para os rendimentos em Bixina.....	78
Tabela 4.10	Variáveis de entrada, codificadas e reais selecionadas para os procedimentos pós-extração.....	82
Tabela 4.11	Variável de resposta Rm(%) para os procedimentos pós-extração.....	82
Tabela 4.12	Variável de resposta Bi(%) para os procedimentos pós-extração.....	82
Tabela 4.13	Comparativo dos valores das variáveis de resposta BiP1 e BiP2 em relação a Bi 09.....	83
Tabela 4.14	Percentuais de Bixina, cinzas e outros produtos contidos em materiais de corridas conforme MSR e de procedimentos pós-extração.....	84

LISTA DE SIGLAS E NOMENCLATURA

Siglas

ANOVA	Análise de variância
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CEE	Comissão Econômica Européia
CI	Color Index
CPATU	Centro de Pesquisas Agropecuárias do Trópico Úmido
CTAA	Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agricultural Organization
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDA	Ingestão Diária Aceitável
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
JECFA	JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES
LEPRON	Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais
MSR	Metodologia de Superfícies de Respostas
OMS	Organização Mundial de Saúde
SBCN	Sociedade Brasileira de Corantes Naturais
SERS	Sistema de Extração com Recirculação de Solventes
WHO	World Health Organization

Nomenclatura

Bi(%)	Teor de bixina na massa corante
b.s.	Base seca
b.u.	Base úmida
Cs	Concentração de Hidróxido de Potássio (% massa/volume)
CV	Coefficiente de variação
Dp	Diâmetro médio dos grãos de urucum (mm)

epm	erro padrão da média
F	Teste de Fischer
N	Números de amostras
p	Probabilidade acumulada
R	Coefficiente de correlação
R ²	Coefficiente de determinação
Rm(%)	Rendimento em massa corante
s	Desvio padrão
t	Tempo (minutos)
X ₁	Variável codificada para a relação solvente/semente
X ₂	Variável codificada para concentração de solvente
X ₃	Variável codificada para tempo
x	Média aritmética
Φ	Relação Volume de solvente/massa de semente de urucum

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 CORANTES NATURAIS.....	19
2.1.1 Considerações Gerais.....	19
2.1.2 Corantes Naturais no Brasil.....	20
2.1.3 Características dos Corantes Naturais.....	21
2.2 CAROTENÓIDES.....	22
2.3 URUCUM.....	24
2.3.1 Descrição da planta.....	24
2.3.2 Qualidade das sementes.....	25
2.3.3 Classificação.....	28
2.3.4 Caracterização dos grãos.....	29
2.4 BIXINA E NORBIXINA.....	33
2.5 OUTRAS APLICAÇÕES PARA O URUCUM.....	36
2.5.1 Uso cosmético.....	37
2.5.2 Propriedades Farmacológicas.....	37
2.6 TOXICIDADE E LEGISLAÇÃO.....	38
2.6.1 Toxicidade.....	38
2.6.2 Legislação.....	40
2.7 EXTRATOS DE URUCUM.....	40
2.8 ESTABILIDADE DOS CORANTES DE URUCUM.....	46
2.9 APLICAÇÕES DE CORANTES DE URUCUM EM ALIMENTOS.....	49
2.10 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	52
3 MATERIAL E MÉTODOS	54
3.1 MATERIAL.....	54
3.1.1 Matéria-prima.....	54
3.1.2 Equipamentos e reagentes.....	55
3.2 MÉTODOS.....	55
3.2.1 Caracterização física e determinação da composição centesimal	55
3.2.2 Métodos de análise de bixina dos grãos de urucum.....	56
3.2.3 Ensaio analítico dos extratos obtidos.....	59

3.2.4 Metodologia de extração	59
3.2.5 Extrações e otimização do processo	63
3.2.6 Otimização pós-extração	65
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS GRÃOS DE URUCUM.....	66
4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS GRÃOS DE URUCUM.....	67
4.3 RESULTADOS DAS EXTRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DA MSR.....	69
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA A RESPOSTA $R_m(\%)$	70
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA A RESPOSTA $B_i(\%)$	75
4.6 OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO.....	80
4.6.1 Identificação da melhor condição de processo para $R_m(\%)$ versus $B_i(\%)$	80
4.6.2 Seleção das variáveis que representam as condições de otimização	81
4.7 OTIMIZAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PÓS-EXTRAÇÃO.....	81
4.8 EFEITO DO TEOR DE CINZAS NA VARIÁVEL DE RESPOSTA $B_i(\%)$	83
5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES	85
5.1 CONCLUSÕES.....	85
5.2 SUGESTÕES.....	86
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICES	92

1. INTRODUÇÃO

A tendência atualmente demonstrada pelo mercado internacional em restringir o uso de corantes artificiais em alimentos aumentou o interesse das indústrias pelas matérias-primas naturais, fornecedoras de corantes naturais. Nesse aspecto, as plantas corantes da região amazônica destacam-se como importantes matérias-primas para a obtenção destes insumos, devido principalmente, às suas características naturais e não tóxicas.

Diante desta crescente tendência do mercado consumidor pelos produtos naturais e de boa qualidade, é imperativa uma reavaliação dos insumos e processos utilizados pela indústria em geral. Esta tendência atinge principalmente a indústria de alimentos, para a qual se verifica que os aditivos sintéticos, utilizados nos produtos gerados por esse segmento industrial, podem causar problemas à saúde humana devido à sua toxicidade. A solução encontrada está no uso de aditivos naturais (corantes naturais). Contudo, os corantes naturais ainda apresentam alguns problemas, principalmente os decorrentes da instabilidade à incidência direta da luz e oxigênio, do processamento (extração e secagem) e da falta de homogeneidade na cor do produto final.

Torna-se então necessário intensificar estudos com essas matérias primas, desenvolver e aperfeiçoar as operações de processamento, visando minimizar a degradação dos corantes de interesse, e assim obter produtos de qualidade e competitivos comercialmente. Desta forma, viabilizam-se possíveis utilizações dos mesmos nos diversos segmentos industriais, favorecendo a desejada substituição dos corantes artificiais.

A consecução destes objetivos colocaria o Brasil numa situação privilegiada, pela grande potencialidade de produção e por possuir umas das maiores taxas de biodiversidade do ecossistema. Neste, o Estado do Pará destaca-se como um dos maiores produtores nacionais de grãos de urucum, de cultivares que apresentam elevados teores de bixina, o principal corante de interesse. Entretanto, grande parte de sua produção é consumida localmente, ou vendida sem nenhum beneficiamento.

A importância do desenvolvimento de tecnologias e processos otimizados para corantes naturais, reside na necessidade de se obter um produto final com características tecnológicas adequadas, para competir com os já consolidados no

mercado (corantes sintéticos), visando agregar valor e melhorar as condições sócio-econômicas da região.

Desta forma o trabalho tem por objetivo principal: Otimizar o processo de obtenção de norbixina em pó, a partir de sementes de urucum, utilizando o Sistema de Extração com Recirculação de Solventes (SERS).

Tendo como objetivos específicos:

- Verificar a influência de variáveis operacionais de entrada no rendimento em massa do processo de extração e no rendimento em massa de norbixina, expresso em bixina;
- Obter um corante natural de qualidade para aplicação em produtos alimentícios;
- Desenvolver nova tecnologia apropriada à extração de corantes naturais;

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CORANTES NATURAIS

2.1.1 Considerações gerais

Observa-se, através dos meios de comunicação, uma tendência mundial quanto à utilização de produtos elaborados com ingredientes naturais, em substituição aos sintéticos, uma vez que existe a crença da população em geral, ajudada pela divulgação na mídia, de que o composto natural é inócuo e o artificial é geralmente tóxico.

De acordo com Furtado (2003), o movimento de adesão aos corantes naturais no Brasil justifica um crescimento médio anual no consumo entre 5% e 9%. Observa-se que, de forma geral, além das aplicações já tradicionais dos corantes, surgem novos usos, motivados por desenvolvimentos dos próprios clientes, bem como aplicações onde é possível agregar valor um pouco maior ao produto final, em virtude do uso de corantes naturais.

A crescente utilização de corantes naturais em substituição aos sintéticos é um processo irreversível, pois hoje vem se observando no mercado um crescente apelo por produtos caracterizados como “bio”, principalmente em países europeus e no Japão.

Esta tendência, juntamente com as restrições impostas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), tem levado cada vez mais indústria e pesquisadores ao interesse por materiais naturais, em particular vegetais, que podem ser usados como corante (ALVES, 2005).

Por outro lado, em muitos casos interessantes para os corantes, as preocupações com a integridade dos alimentos fizeram as empresas reduzirem em média, de um ano para três meses, o prazo de validade de seus produtos, o que garante a estabilidade dos corantes naturais, sem considerar que em ambientes secos e sem a incidência de luz direta os mesmos podem manter a cor por muito tempo, chegando em certos casos até um ano (FURTADO, 2003).

2.1.2 Corantes Naturais no Brasil

O Brasil reúne capacidade agrônômica e técnica para a produção de matéria-prima necessária à obtenção dos corantes, com exceção do carmim, cuja matéria-prima é importada. A maioria das indústrias brasileiras percebe a necessidade de desenvolver novos tipos de corantes, com novas tecnologias, e a importância de novas linhas de pesquisas, principalmente nas áreas toxicológicas, de extração e estabilidade (MASCARENHAS *et al.* 1999). Nesse aspecto, as sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) destacam-se como uma importante matéria-prima encontrada no país, para a obtenção de corantes, devido principalmente às suas características de produto natural, não tóxico, elevado poder tintorial e amplo espectro de cores (FARIA, 1998).

Até o início da década de noventa, o mercado de urucum era muito instável (FRANCO, 2004). Hoje há um crescimento sistemático na sua cultura, fato decorrente da expansão do mercado, que ainda no final da década de noventa, já contava com trinta e cinco indústrias (MASCARENHAS *et al.* 1999). Grandes empresas como a dinamarquesa Chr. Hansen, por exemplo, têm contribuído muito, juntamente com a EMBRAPA, para que sejam plantadas as variedades corretas de urucuzeiros, garantindo assim rendimento maior por área plantada, associado a um teor de bixina comercialmente satisfatório (URUCUM, 2001).

Atualmente, o Brasil com uma produção em torno de 14 mil toneladas (IBGE, 2005), destaca-se como o segundo produtor de urucum, seguido pelo Quênia; sendo o Peru, o maior produtor e exportador (OLIVEIRA, 2005).

A maior região brasileira produtora de urucum é a Sudeste, com 4387 toneladas de grãos em 2004, seguida pelas regiões Norte com 4088 e Nordeste com 3588 toneladas, no mesmo ano. Entre os Estados, São Paulo destaca-se como maior produtor nacional, com 2984 toneladas, seguido por Rondônia, com 2256 toneladas. O Pará é o quarto maior produtor nacional, com 1718 toneladas, também no ano de 2004. Bahia é o Estado brasileiro com maior produtividade de urucum, e rendimento médio de 1836 Kg/ha. No Pará o rendimento por hectare situa-se em torno de 800 Kg. Em 2004 a produção brasileira foi de 13.436 toneladas com um faturamento de R\$ 23.070,00, o que dá em média R\$1,71/Kg. Por Estado, nesse

mesmo ano, o valor da produção variou de 1 a 2 reais por Kg. de grão produzido (IBGE, 2005).

No aspecto tecnológico, destacam-se os esforços de alguns grandes laboratórios para tornar outros corantes, além do urucum, solúveis em água. Isso é possível com o encapsulamento dos corantes, em bases como: amido, gomas e gelatinas; tornando-os uma emulsão, o que amplia o uso para outros produtos.

Em relação ao urucum, interessada em expandir o uso desse corante para um mercado onde havia limitação técnica, a Chr. Hansen desenvolveu um grupo (grade) resistente à pHs ácidos, denominados “*acid proof*”, para tornar o urucum possível de ser aplicado em bebidas carbonatadas e sucos (FURTADO, 2003).

2.1.3 Características dos Corantes Naturais

Os Corantes naturais podem ser agrupados da seguinte maneira: 1) Matérias-primas naturais; 2) Extratos de matérias-primas; 3) Substâncias corantes naturais extraídas e purificadas; 4) Equivalente sintético de substâncias corantes naturais; 5) Derivados químicos de corantes naturais (NAZÁRIO, 1989).

Para Angelucci (1989), colorir alimentos e bebidas é necessário sob vários aspectos: a) Restabelecer a coloração original de produtos cujos constituintes afetam a cor inicial, diminuindo-a; b) Compensar a perda de cor devido ao processamento industrial do alimento; c) Uniformizar a cor do alimento cuja matéria-prima tem flutuação de cor; d) Dar cor a produtos originalmente incolores e não atrativos ao consumidor.

O mesmo autor lista uma série de vantagens e desvantagens referentes ao uso de corantes naturais. Dentre as vantagens atribuídas aos corantes naturais destacam-se:

- 1) São conhecidos e têm sido usados há séculos sem danos à saúde do homem;
- 2) São mais bem aceitos pelo consumidor;
- 3) Dão matizes suaves e, portanto, os alimentos se apresentam mais naturais;
- 4) Alguns são mais estáveis em certos alimentos;
- 5) Alguns são mais baratos que os artificiais;
- 6) Alguns (urucum, beta caroteno) são solúveis em óleo, compatibilizando a sua aplicação em alimentos mais gordurosos.

Dentre as desvantagens, destacam-se:

- 1) Estabilidade ao calor – os corantes sintéticos são mais estáveis ao calor, apesar de poder haver degradação em alimentos enlatados;
- 2) Estabilidade ao pH – enquanto os corantes artificiais não sofrem alterações de cor com o pH, os naturais têm restrições;
- 3) Estabilidade à luz – com exceção da indigotina, os demais corantes artificiais são altamente estáveis à luz; já os naturais têm maior suscetibilidade à decomposição ou alteração de cor, em presença de luz;
- 4) Estabilidade ao oxigênio – praticamente os corantes artificiais não sofrem oxidação; os naturais, principalmente os carotenos, em presença de oxigênio, luz e metais, são altamente suscetíveis à oxidação.

2.2. CAROTENÓIDES

Considerado como o maior e mais importante grupo de pigmentos naturais, os carotenóides têm sido objeto de um crescente interesse em várias áreas de investigação.

Os carotenóides encontrados naturalmente, com exceção da crocina e da bixina, são tetraterpenóides formados por oito unidades de isopreno, unidas por ligação “cabeça-cauda” (exceto no centro da molécula) com estrutura simétrica e reversão do plano de simetria no centro da molécula (CARVALHO, 1991). Estruturas químicas de alguns carotenóides são demonstradas na Figura 2.1.

Existem duas maneiras de classificar os carotenóides. a primeira considera a existência de duas grandes famílias, os carotenos, que são carboidratos, e as xantofilas, que contêm oxigênio na forma de grupos hidroxilas, metoxilas, carboxila, ceto ou epóxi. O segundo sistema divide os carotenóides em três tipos: acíclico (licopeno), monocíclico (γ -caroteno) e bicíclico (α -caroteno e β -caroteno). O nome carotenóide tem sua origem no pigmento da cenoura (*Daucus carota*).

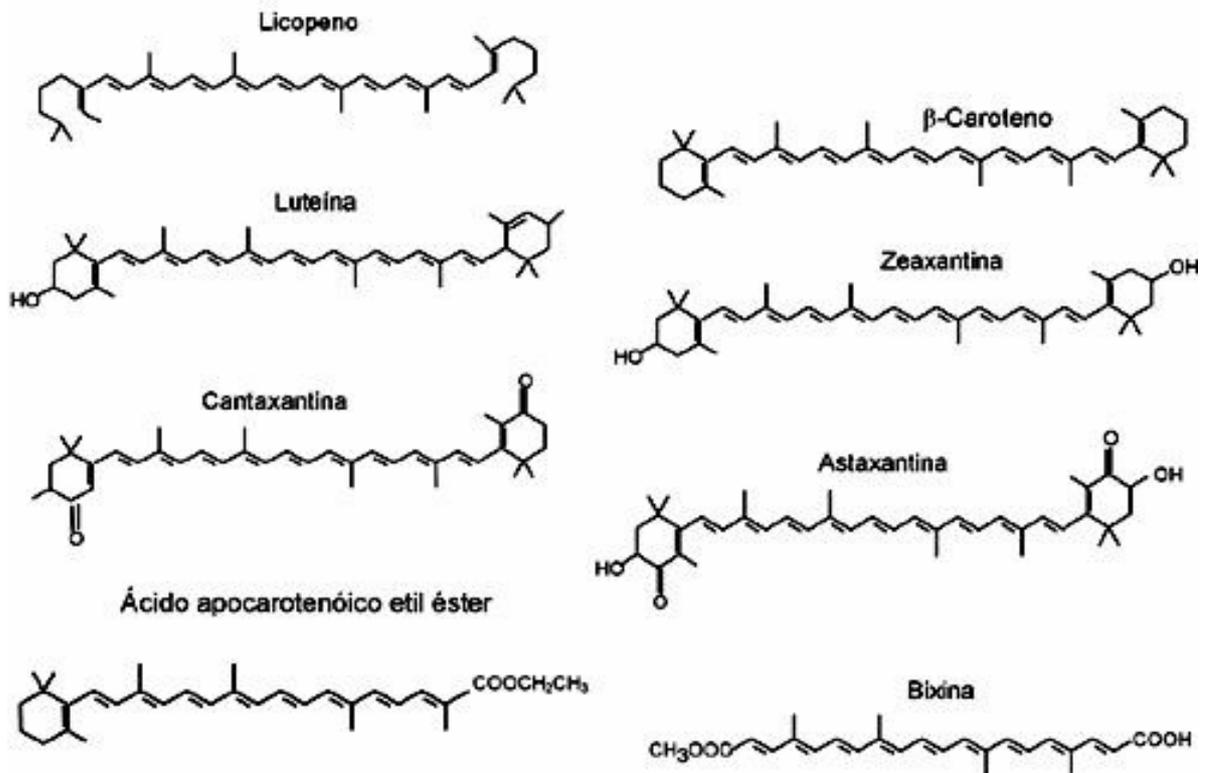


Figura 2.1. Estrutura química de alguns carotenóides

A cor é o resultado da presença de um sistema de ligações duplas conjugadas. Quanto maior o número de ligações duplas conjugadas presentes na molécula, mais a faixa de absorção será deslocada para a região de comprimento de ondas maiores; como conseqüência, a tonalidade tornar-se mais avermelhada. Um mínimo de sete ligações duplas conjugadas é necessário antes que seja perceptível a aparição de uma tonalidade amarelada. Nessa família encontra-se a bixina. O pigmento bixina é um ácido dicarboxílico esterificado com uma molécula de etanol (CORANTES, 2000).

As restrições de usos de muitos corantes sintéticos e a relativa instabilidade de muitos carotenóides têm levado a um uso crescente do urucum, na forma de bixina, norbixina e outros “*blends*”, em vários setores processadores de alimentos; de modo mais acentuado o de laticínios (URUCUM, 2001).

2.3 URUCUM

2.3.1 Descrição da planta

O urucuzeiro é originário da América Latina, tipicamente tropical e, atualmente pantropical, ou seja, é cultivado nos trópicos de todo o mundo. Sendo assim cresce em vários países do mundo, como Bolívia, Brasil, Ceilão, República Dominicana, Equador, Guiana, Índia, Jamaica, México, Peru e Suriname, entre outros (URUCUM, 2001).

Pertence à família *Bixaceae* e possui o nome botânico de *Bixa orellana* L. O vocábulo Bixa é a forma latinizada da palavra índia Bija, e orellana, é uma homenagem ao explorador espanhol Francisco Orellana.

O Urucuzeiro é uma planta perene, não sendo exigente quanto a solos, clima e tratos culturais. É denominada popularmente de urucum ou urucu, no Brasil; “annatto” nos países de língua inglesa; “achiote” nos de língua espanhola; e “roucou” nos países de língua francesa. O termo urucu significa vermelho na língua tupi.

De acordo com Ferreira e Falesi (1991) a planta é cultivada no Brasil desde abaixo do trópico de Capricórnio até a linha do Equador e com seu congênere *Bixa arborea* Huber, compreende o único gênero da família bixácea, com uma espécie e várias variedades silvestres.

O urucuzeiro possui porte médio, com quatro a seis metros de altura, dependendo da região ecológica e idade da planta, pode alcançar até 9 metros. Tem vida útil superior a 30 anos, podendo alcançar 50. Na prática, as árvores são mantidas cerca de 15 anos, com podas a cada dois anos. Após este período replanta-se a lavoura (URUCUM, 2001).

O fruto é na forma de cápsulas, contendo espinhos moles, denominadas correntemente entre os produtores, de cachopas. Segundo Canto *et al* (apud FARIA, 1998) sua polinização é feita por auto-fecundação ou cruzada, por meio de vento e insetos, favorecendo a ocorrência de uma grande diversidade de características fenotípicas e influenciando, o que é de grande importância, a forma e o número de sementes por fruto e o teor de bixina nas sementes.

O interior está normalmente dividido em duas valvas, com 10 a 50 pequenas sementes, aproximadamente do tamanho das sementes de uva. As

sementes estão cobertas por uma polpa mole e vermelha, como a de um tomate bem maduro (URUCUM, 2001).

A coloração das sementes varia desde o vermelho intenso (maior teor de corantes) até róseo-claro (menor teor de corantes). A influência da coloração das cápsulas de urucum no teor de bixina foi verificada por Falesi *et al* (apud FARIA, 1998), que constataram maiores teores de corante nas sementes contidas em cápsulas vermelhas (2,45 a 5,0 %) do que nas cápsulas verdes (1,6 a 4,64%), analisando nove tipos cultivados no Estado do Pará. Na Figura 2.2 observam-se cápsulas (cachopas) de urucum abertas, e fechadas.



Figura 2.2. Cápsulas (cachopas) de urucum abertas e fechadas

2.3.2 Qualidade das sementes

A cultura do urucum surgiu no cenário agrícola gerando grandes expectativas, em função da demanda emergente do mercado por corantes naturais em substituição aos sintéticos (MARTINS *et al*, 1996). A EMBRAPA Amazônia Oriental (CPATU), no período de 1980 a 1990, contribuiu para o incremento da produção regional, através de investigações agronômicas, disponibilizando resultados para serem utilizados por produtores (POLTRONIERI, 2006).

Uma dessas pesquisas foi um ensaio com o objetivo de ampliar a recomendação de tipos superiores de urucum, disponíveis na época. Desse trabalho, realizado por Martins *et al* (1996), destaca-se a comparação de parâmetros como: número de sementes por cápsula, peso de 100 sementes (g) e teor de bixina (%), conforme mostrado na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. Caracterização de sementes de urucum para diferentes cultivares.

Tipo	Sementes por cápsulas		Peso de 100 sementes		Teor de Bixina	
Piave Vermelha	46	46	2,87	2,80	3,73	4,51
Piave Verm. Gigante	38	51	2,78	2,50	3,72	3,91
Verde Amarela	45	49	2,29	2,50	2,22	3,71
CPATU-0097	48	46	2,86	2,30	3,22	3,92
CPATU-0060	45	44	2,67	2,50	3,35	4,30
Peruana Paulista	41	48	2,80	2,70	3,12	3,28
Peruana CPATU 1	35	32	2,75	2,10	3,30	5,65
Bico de Pato I	51	51	2,61	2,40	2,13	3,02
Bico de pato II	42	54	2,70	2,40	2,15	3,07
Peruana CPATU II	31	31	2,36	2,40	3,93	5,31
Média Geral	42	45	2,67	2,50	3,09	4,07

Obs: Para cada característica, os números da esquerda e direita se referem aos municípios de Belém (EMBRAPA-CPATU) e S. Francisco do Pará, respectivamente.

Outra pesquisa em destaque é a de Falesi e Kato (1992) que estudaram cultivares da região amazônica, determinando os teores de bixina, analisados no Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos – CTAA/EMBRAPA, através do método do clorofórmio, identificou diversas cultivares com teores acima de 4%, destacando-se a Piave Gigante, de Igarapé Açu-PA, que apresentou teores de bixina de 6,0% e 6,9%, base úmida e seca, respectivamente. Os resultados completos dos teores de bixina determinados em tipos cultivados no Estado do Pará estão descritos na Tabela 2.2.

A partir de 1990 foi constatada uma redução na produção de urucum, em decorrência da substituição, abandono e diminuição da área cultivada (POLTRONIERI, 2006).

Tabela 2.2. Teores de bixina determinados em diferentes cultivares no Estado do Pará

Tipo	Procedência	Umidade (%)	Teor de bixina (%)	
			Úmida	Seca
Piave Gigante	Igarapé -Açu/PA	12,07	6,00	6,90
Bico de Pato	Igarapé -Açu/PA	10,47	5,75	6,40
CPAF/Amapá	Cerrador/PA	10,32	5,47	6,12
Dico Bento I	Igarapé -Açu/PA	12,49	4,77	5,45
Peruana/Ronald	Belém-PA	7,81	4,78	5,40
Pastelão	Igarapé -Açu/PA	8,75	4,70	5,15
Piave Vermelha	Igarapé -Açu/PA	11,68	4,34	5,00
Abe	S. Fco. Pará/PA	11,51	4,27	4,83
Ramal do Prata	Igarapé -Açu/PA	10,50	4,25	4,74
Verdinha	Igarapé -Açu/PA	10,78	4,17	4,66
Dico Bento III	Igarapé -Açu/PA	13,39	3,90	4,50
Wagner	Igarapé -Açu/PA	12,25	0,92	1,60

Fonte: Falesi e Kato (1992).

Mais recentemente, os produtores nacionais de urucum passam por uma remodelação, impulsionados pelo interesse da indústria, local e mundial, que na necessidade de aumentar sua produção, precisou contar com fornecimentos mais constantes e melhores. Para começar, houve uma migração das melhores colheitas do Norte e Nordeste para o Sudeste do País. A necessidade dos principais fabricantes de corantes de contar com fornecedores na vizinhança e a disponibilidade de assessoria técnica e de fôlego investidor existente na região, foi determinante nesse novo panorama.

Tradicionalmente, eram considerados os melhores grãos de urucum os provenientes do Norte, no Pará e no Amazonas, onde ainda eram realizadas colheitas selvagens de árvores perenes. Com o tempo, porém, os produtores de São

Paulo, das regiões de Monte Castelo e Olímpia, passaram a se organizar e contar com apoio tecnológico de empresas do ramo, possuindo hoje o melhor urucum do país (FURTADO, 2003).

Outros Estados também começam a se destacar tanto em pesquisas como em produção, podendo-se destacar a Bahia e Paraíba, no Nordeste, Rondônia na região Norte e Paraná, único produtor de importância na Região Sul.

Alguns fatores contribuem para melhoria da qualidade das sementes de urucum, como o estágio de maturação das cápsulas no momento da colheita, pois as cápsulas colhidas antes ou após a maturação contribuem para um baixo teor de corantes, reduzindo o rendimento no beneficiamento. A maturação das cápsulas é dada pela mudança de cor, quando passa de verde, amarelo ou vermelho para castanho ou marrom.

O processo de secagem, após a colheita, é outro fator que influencia na qualidade das sementes. O processo mais utilizado por pequenos produtores é a secagem natural em lona estendida no chão que, normalmente, deixa as sementes vulneráveis aos efeitos da radiação solar e a contaminações físicas e microbiológicas. A utilização da secagem solar, através de secadores diretos ou indiretos, é feita apenas por grandes produtores.

No processo de secagem recomenda-se revolver as sementes o mínimo possível, visando evitar perdas significativas de material corante, pelo atrito e exposição ao calor, luz e oxigênio. A perda por atrito é geralmente função da falta de controle no carregamento e no descarregamento das sementes, no local da secagem (FRANCO, *et al* 2002; POLTRONIERI 2006).

2.3.3 Classificação

A classificação dos grãos de urucum define as características de identidade, qualidade, apresentação e embalagem. Para efeito de classificação são considerados os parâmetros apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3. Classificação de grãos de urucum, segundo suas características físico-químicas

Especificação	Classe		
	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3
Umidade	$\leq 10\%$	$> 10 \leq 14\%$	$> 14\%$
Bixina	$> 2,5\%$	2,0 a 2,5%	$< 1,8\%$
Impurezas	$< 5\%$	$< 5\%$	$> 5\%$
Material estranho	Ausente	Ausente	Ausente

Fonte: Franco *et al.* (2002)

Para efeito de padrões são considerados (FRANCO *et al.*, 2002):

- 1) Umidade: porcentagem de água contida na amostra;
- 2) Teor de bixina: porcentagem de pigmento contido no pericarpo da semente (matéria prima na indústria de corantes);
- 3) Odor: cheiro típico desejado, aromático, penetrante;
- 4) Impurezas: detritos do próprio produto, como pedúnculos e folhas;
- 5) Material estranho: grãos ou sementes de outros vegetais, além de corpos estranhos de qualquer natureza não oriundos dos produtos e que não seja nocivo à saúde humana;
- 6) Mofo: bolor proveniente de fermentação do produto provocado por fungos e/ou bactérias.

2.3.4 Caracterização dos grãos

No que se refere ao aspecto econômico dos cultivos de urucum, as características de maior importância e que se constituem em parâmetros para trabalhos de melhoramento, são: o número de cachos/planta, número de sementes/cacho, número de cápsulas/cacho, uniformidade de maturação, deiscência das cápsulas, tolerância a pragas e doenças, densidade das sementes, intensidade de coloração das sementes e porcentagem de bixina. Todas essas características têm herança quantitativa e, portanto, são determinadas por alguns genes que podem sofrer influência do ambiente (SÃO JOSÉ *et al.*, 2006).

A caracterização física dos grãos de urucum, necessária para a comparação dos dados obtidos após processo de beneficiamento da cultivar utilizada neste trabalho, reportada na literatura, está sumarizada na Tabela 2.4. e na Tabela 2.5:

Tabela 2.4. Diâmetro médio (Dp) de grãos de urucum reportado na literatura

Tipo Cultivado	Procedência (Referência)	(Dp) (mm)	Método de determinação
Não identificado	Minas/Rio (1)	3,40	Picnometria de comparação a ar
Não identificado	Rio (2)	3,32	Picnometria com 700 partículas
Não identificado	Nordeste (3)	3,46	Esfera de igual volume
Não identificado	Sudeste (3)	3,43	Esfera de igual volume
Peruana	Pará (4)	3,40	Esfera de igual volume
Piave Vermelha	Pará (4)	3,50	Esfera de igual volume
Não identificado	Minas (5)	3,42	Picnometria (tolueno) e medição direta (200 amostras)
Piave Vermelha	Pará (6)	3,52	Técnica de peneiramento

Referências: (1) Pinheiro, Silva e Alsina (1990); (2) Barreto, Jaeger e Massarani; (3) Silva (1991); (4) Castro e Faria (1992); (5) Meneses e Passos (1995); (6) Faria (1998)

Fonte: Adaptado de Faria (1998)

Tabela 2.5. Peso (em gramas), média por cápsulas e teor de bixina, de grãos de urucum, reportados na literatura

Tipo	Procedência (Referência)	Peso de 100 sementes	Sementes por cápsula (média)	% Bixina
Fruto Verde Piloso	Viçosa-MG (1)	nd	56,72	nd
Fruto Vermelho Liso	Viçosa-MG (1)	nd	48,02	nd
Descendentes	Viçosa-MG (1)	nd	53,32	nd
		2,67	54,83	nd
Piave Vermelha	Jaboticabal -SP (2)	2,72	51,96	nd
		2,45	49,83	nd
Diversos	Vit. da Conquista- BA (3)	2,65	41,08	2,83
		2,14	40,68	4,39
Embrapa 1	Mangabeira -PB (4)	2,88	37,67	3,61
Embrapa 2	Mangabeira -PB (4)	2,78	48,67	4,00
Bico de pato 20	Mangabeira -PB (4)	2,90	52,67	2,81
Bico de pato-22	Mangabeira -PB (4)	2,59	39,00	2,71
Piave	Mangabeira -PB (4)	2,83	48,33	1,75
Casca Vermelha	Mangabeira -PB (4)	2,66	47,67	2,94
Casca Verde	Mangabeira -PB (4)	2,55	46,33	2,68
SBCN 4	Lagoa Seca -PB (4)	nd	27,84	3,12
SBCN 5	Lagoa Seca -PB (4)	nd	35,17	2,52
SBCN 6	Lagoa Seca -PB (4)	nd	46,32	1,91
SBCN 7	Lagoa Seca -PB (4)	nd	38,70	3,43
SBCN 8	Lagoa Seca -PB (4)	nd	43,39	3,36
Casca Verde	Lagoa Seca -PB(4)	nd	40,29	4,18
Casca Vermelha	Lagoa Seca -PB(4)	nd	43,15	2,68

Referência: (1) Almeida e Pinheiro (1996); (2) Moraes *et al.* (1996); (3) São José *et al.* (1999); (4) Franco (2002). nd - não determinado

De grande importância é a caracterização química dos grãos de urucum, visto que o mesmo possui aplicações diversas, inclusive em nutrição animal.

A composição química dos grãos de urucum encontrada na literatura está resumida na Tabela 2.6.

Tabela 2.6. Composição química (base úmida) dos grãos de urucum reportada na literatura

Componente	Composição	Cultivar	Procedência	Referência
Lipídios	3,66 %	Não especificado	Não especificado	(1)
	1,21%	Piave Vermelha	Pará	(4)
Proteínas (%N x 6,25)	10,88 %	Não especificado	S. Paulo	(2)
	10,27%	Não especificado	Não especificado	(1)
	12,82%	Vermelha ¹	S. Paulo	(3)
	13,12 %	Vermelha ²	S. Paulo	(3)
	12,13%	Vermelha ³	São Paulo	(3)
	8,85%	Piave Vermelha	Pará	(4)
	13,00%	Fruto verde piloso	Minas Gerais	(5)
	11,00%	Fruto vermelho	Minas Gerais	(5)
Cinzas	5,20 %	Não especificado	Não especificado	(1)
	6,92 %	Vermelha ¹	São Paulo	(3)
	5,73%	Vermelha ²	São Paulo	(3)
	5,44 %	Vermelha ³	São Paulo	(3)
	5,60 %	Não especificado	São Paulo	(2)
	3,76%	Piave Vermelha	Pará	(4)
	4,30%	Fruto verde piloso	Minas Gerais	(5)
	4,20%	Fruto vermelho	Minas Gerais	(5)
Extrato Etéreo	5,22%	Vermelha ¹	São Paulo	(3)
	6,84%	Vermelha ²	São Paulo	(3)
	8,84%	Vermelha ³	São Paulo	(3)
	4,80%	Não especificado	São Paulo	(2)
	7,00%	Fruto verde piloso	Minas Gerais	(5)
	6,50%	Fruto Vermelho	Minas Gerais	(5)

Tabela 2.6. Composição química dos grãos de urucum reportada na literatura (continuação)

Componente	Composição	Cultivar	Procedência	Referência
Carboidratos totais	47,90%	Vermelha ¹	São Paulo	(3)
	47,41%	Vermelha ²	São Paulo	(3)
	39,91%	Vermelha ³	São Paulo	(3)
	57,38%	Não especificado	São Paulo	(2)
	64,78%	Piave Vermelha	Pará	(4)
	48,00%	Fruto verde piloso	Minas Gerais	(5)
	47,50%	Fruto vermelho	Minas Gerais	(5)
Fibra Bruta	12,58%	Vermelha ¹	São Paulo	(3)
	13,85%	Vermelha ²	São Paulo	(3)
	13,12%	Vermelha ³	São Paulo	(3)
	18,48%	Não especificado	São Paulo	(2)

Referências: (1) Silva (1991); (2) Carvalho, Carvalho, e Mantovani (1991); (3) Angelucci, Arima, Kumagai (1980); (4) Faria (1998); (5) Oliveira, Nagem e Almeida (1999)

Legenda dos números em sobrescrito: ¹Comercial ;²Seca; ³Fresca

Fonte: Adaptado de Faria (1998)

2.4 BIXINA E NORBIXINA

O corante do urucum é extraído a partir da polpa da semente, a qual é constituída de uma fina camada resinosa de coloração vermelho-alaranjada. A bixina, principal corante desta bixácea, está presente nas sementes, entre 70 a 80%, sendo o restante, substâncias cujas estruturas estão relacionadas com a bixina, incluindo a norbixina, tais como orelina, metilbixina, criptoxantina, luteína e zeaxantina, entre outras (URUCUM, 2001).

Os carotenóides bixina apresentam duas configurações estereoquímicas, isto é, *cis* e *trans*. Nos extratos em condições normais predomina a *cis*-bixina, ou *cis*-norbixina, mais instável. A *cis*-bixina ou *cis*-norbixina em solução, sob aquecimento, é parcialmente transformada para a configuração *trans*, mais estável, conhecida

como isobixina e isonorbixina. Há também a formação de produtos de degradação térmica (WOOD *et al*, 1991 apud PRENTICE-HERNANDEZ, 1994).

As fórmulas químicas dos principais pigmentos carotenóides do urucum são apresentadas na Tabela 2.7.

Tabela 2.7. Fórmula e peso molecular dos principais pigmentos do urucum

Nome	Fórmula molecular	Peso molecular
α -bixina (<i>cis</i> ou bixina lábil)	$C_{25}H_{30}O_4$	394
β -bixina (<i>trans</i> ou bixina estável)	$C_{25}H_{30}O_4$	394
α -norbixina (<i>cis</i> ou norbixina lábil)	$C_{24}H_{28}O_4$	380
β -norbixina (<i>trans</i> ou norbixina estável)	$C_{24}H_{28}O_4$	380
produto amarelo de degradação térmica	$C_{17}H_{20}O_{24}$	288

Fonte: Urucum (2001)

Estruturas planas, da bixina e norbixina são apresentadas nas Figuras 2.3 e 2.4 respectivamente (ALVES, 2005)

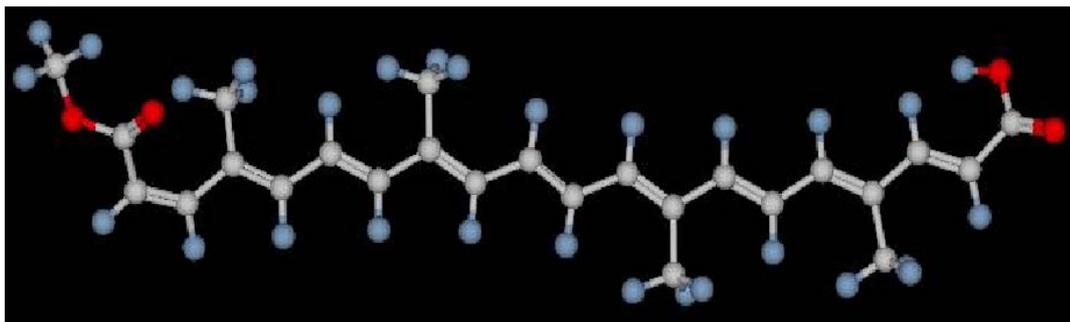


Figura 2.3. Estrutura molecular da bixina, $C_{25}H_{30}O_4$, (PM=394,51)

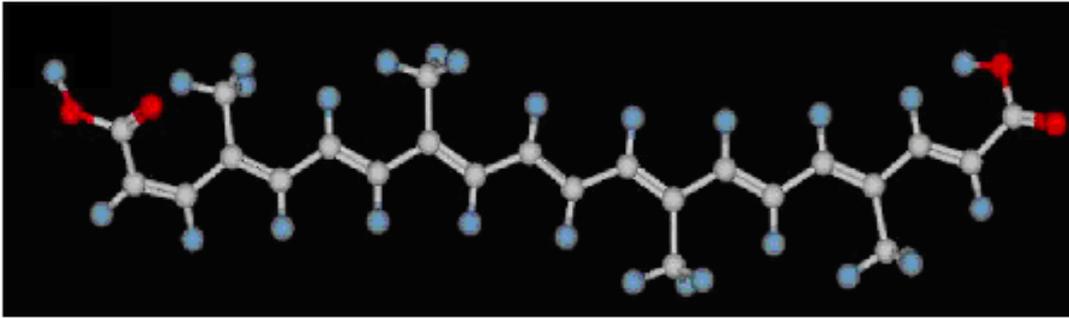


Figura 2.4. Estrutura molecular da norbixina $C_{24}H_{28}O_4$ (PM=380,48)

De acordo com Nakamura (1991), as importantes propriedades físicas da bixina, são: ponto de fusão $198^{\circ}C$; máxima absorvância em clorofórmio 503nm, 469,5nm, 439nm; máxima absorvância em dissulfeto de carbono 526nm, 491nm, 457nm; solúvel em acetona, clorofórmio, solução aquosa alcalina; insolúvel em água; pouco solúvel em álcool etílico e propileno glicol.

Um extrato diluído de bixina é amarelo, um extrato concentrado é vermelho escuro e um extrato de concentração moderada é amarelo esverdeado. O extrato possui boa estabilidade em relação à oxidação, variação de pH e ataque microbiológico. É moderadamente estável em relação á luz. A bixina é muito estável a temperaturas abaixo de $100^{\circ}C$, moderadamente estável entre $100-125^{\circ}C$ e instável acima de $125^{\circ}C$.

Segundo Nakamura (1991) a norbixina possui as seguintes propriedades: ponto de fusão acima de $300^{\circ}C$; máxima absorvância em dissulfeto de carbono: 527nm, 491nm, 458nm; solúvel em ácido acético glacial; insolúvel em água, álcool, propileno glicol, óleo ou gordura. Possui estabilidade em relação à luz, calor e variação de pH melhores que a bixina.

Oliveira (2005) avaliou a solubilidade da bixina e da norbixina em diferentes solventes. O resultado para alguns solventes orgânicos está apresentado na Tabela 2.8. O resultado para a solubilidade da bixina em soluções de NaOH e NH_4OH está apresentado na Tabela 2.9.

Tabela 2.8 Solubilidade da Bixina e Norbixina em solventes orgânicos

	Solvente	Bixina mg/mL	Norbixina mg/mL
1	Clorofórmio	3,75	0,29
2	Acetona	1,5	1,96
3	Acetato de etila	0,89	0,76
4	Metanol	0,38	0,68
5	Éter etílico	0,37	0,12
6	Etanol anidro	0,18	1,82
7	n-hexano	*	*
8	Éter de petróleo	*	*

* Não detectado por espectrofotometria. Fonte : Oliveira (2005)

Tabela 2.9. Solubilidade de bixina em solução aquosa de NH₄OH e de NaOH

NH ₄ OH em água %v/v	Bixina mg/mL	Solução de NaOH Eq.g/L	Bixina mg/mL
0,1	0,06	0,01	0,05
0,5	0,24	0,1	0,37
1,0	0,40	0,5	2,14
3,0	2,92	1,0	4,71
5,0	6,14		
10	46,82		

Fonte: Oliveira (2005)

2.3 OUTRAS APLICAÇÕES PARA O URUCUM

São extensas as informações na literatura relacionadas ao emprego de folhas, sementes e raízes do urucum, na medicina, como cosméticos e complementação de ração animal. Como agente tintorial, existem pesquisas com tingimento de fibras têxteis (LUEDY, 2006).

2.5.1 Uso cosmético

O urucum tem sido considerado um defensor das células dos efeitos nocivos dos raios solares, prevenindo queimaduras. Esta propriedade tem sido atribuída aos tocotrienóis presentes no urucum, que protegem os queratinócitos dos danos causados pelos raios UVB ao DNA (GLÓRIA, 2006).

Desta forma, o extrato oleoso é utilizado em produtos bronzeadores e protetores solares. Os índios americanos já utilizavam o urucum como protetor solar, repelente de insetos e para fins estéticos (tinta vermelha). Algumas comunidades indígenas são fornecedoras exclusivas de urucum para grandes empresas internacionais de cosméticos (URUCUM, 2006)

2.5.2 Propriedades farmacológicas

Dentre os carotenóides naturais, a bixina é um dos mais efetivos extintores biológicos do radical oxigênio e, também, um efetivo inibidor da peroxidação de lipídios. Assim, pode contribuir para a proteção de células e tecidos contra os efeitos nocivos dos radicais livres (GLÓRIA, 2006)

Sementes: ação digestiva e expectorante. Folhas: para tratamento de bronquite, faringite, inflamação dos olhos. A tintura do urucum é usada como antídoto do ácido prússico (veneno da mandioca). Extratos alcoólicos produzem grande inibição em culturas de *Clostridium botulinum*. A casca da semente tem efeitos tóxicos ao pâncreas e ao fígado (URUCUM, 2006).

Extratos de álcool etílico tanto de sementes quanto de folhas, mostraram *in vitro*, uma atividade contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Um extrato aquoso de raízes de urucuzeiro mostrou ter ação hipotensiva em ratos e relaxante muscular em cobaias (porquinhos da índia). Um extrato de sementes secas em clorofórmio apresentou atividade hipoglicêmica em cachorros. Em outros animais observou-se evolução favorável de níveis de colesterol e, em certos casos, de diabetes (URUCUM, 2001).

2.6 TOXICIDADE E LEGISLAÇÃO

2.6.1 Toxicidade

Segundo Nazário (1989), com relação a corantes naturais, a avaliação toxicológica deve ser considerada para 3 grupos:

- a) Corante isolado quimicamente inalterado de um alimento, e usado no mesmo tipo de alimento em níveis normalmente encontrados nesses alimentos. Este corante é aceito como se fosse o alimento, não sendo necessário dados toxicológicos.
- b) Corante isolado quimicamente inalterado de um alimento, e usado no mesmo tipo de alimento em níveis superiores aos normalmente encontrados nesses alimentos ou usados em outros alimentos. Este corante deve ser avaliado toxicologicamente como se fosse artificial.
- c) Corante isolado de um alimento, porém quimicamente modificado durante a sua obtenção ou então extraído de outra fonte alimentar. Este corante deve ser avaliado toxicologicamente como se fosse artificial.

O urucum enquadra-se no item C, por isso, mesmo sendo utilizado por muito tempo em alimentos, e até mesmo em aplicações farmacológicas, deve ser avaliado toxicologicamente em suas diversas formas de utilização.

Investigações realizadas na Holanda sobre a toxicidade do urucum com experiências em ratos, camundongos e suínos, comprovaram que o pigmento não apresenta toxicidade, podendo ser empregado com segurança para colorir manteigas, margarinas, queijos e outros alimentos processados (URUCUM, 2001).

Segundo Preston e Ricard (1980), uma ingestão diária aceitável (IDA) de 1,25 mg/kg de massa corpórea, para extratos de urucum, é permitida pela FAO/OMS desde 1970. Após estudos realizados por esses autores, pode-se afirmar que nos humanos os pigmentos provenientes da bixina lipossolúvel, suspensão de bixina em óleo ou pigmentos de urucum hidrossolúvel podem ser detectados no sangue, dentro de poucas horas após a administração de uma simples dose oral. Eles são absorvidos no intestino pelo sangue e metabolizados pelo fígado (URUCUM, 2001).

De 1970 até hoje existiram alguns avanços, pois os testes toxicológicos para o urucum foram ampliados.

Essas avaliações toxicológicas foram levadas em consideração na 61ª reunião do JECFA (FAO/WHO, 2003) em Roma, Itália, no período de 10 a 19 de junho de 2003, que realizou recomendações para o uso de urucum, já considerando as suas diferentes formas de comercialização. As ingestões diárias aceitáveis estão mostradas na Tabela 2.10.

Tabela 2.10. Ingestão Diária Aceitável (IDA), recomendada pela FAO/WHO, para os diversos tipos de extratos de urucum

Tipo	IDA (mg/kg de peso corpóreo)	Ano (fonte)
Extratos de urucum	0-1,25	1974 (1)
Extrato de Urucum (em bixina)	0-0,065	1982 (1)
Extrato de Urucum (em bixina, extração por solvente) “annatto B”	0-7,0 (temporário) em preparações contendo não menos que 85% como bixina, e 2,5% como norbixina	2003 (2)
Extrato de Norbixina , (por solvente), “annatto C”	0-0,4	2003 (2)
Extrato Oleoso de Bixina, “annatto D”	IDA não estabelecida, não há dados toxicológicos para avaliação	2003 (2)
Extrato de Urucum (processo aquoso), “annatto E”	0-4 (temporário) para preparações contendo não menos que 25% de pigmentos ,como bixina, e não mais que 7% como norbixina	2003 (2)
Extrato de Urucum (processo alcalino de norbixina), “Annatto F”	0-0,4 (temporário), para uma preparação contendo não menos que 35% de pigmentos, como norbixina	2003 (2)
Extrato de Urucum (processo alcalino de norbixina, sem precipitação ácida) “Annatto G”	IDA não estabelecida, desde que dados toxicológicos não foram avaliados	2003 (2)

Fontes: (1) FAO/WHO (segundo FARIA, 1998); (2) FAO/WHO (2003).

2.6.2 Legislação

Os corantes de urucum atendem às diretivas da Comissão Econômica Européia - CEE, sendo classificados sob nº 160 (b) e estão no Color Index, sob nº CI 75.120.

O urucum é listado no Food Chemical Codex dos USA, referência nº 73.30, 73.1030 e 73.2030, e recebeu a menção GRAS (**G**enerally **R**ecommended **A**s **S**afe), sendo assim liberado para utilização em produtos alimentícios para consumo humano (URUCUM, 2001).

A utilização do urucum é permitida em todo os países do mundo. Por causa das restrições aos corantes sintéticos, o urucum aparece como alternativa importante para as indústrias alimentícias, farmacêutica e cosmética. Existem poucas restrições de uso, dependendo do produto e da legislação de cada país.

No Brasil é permitido seu uso em qualquer produto alimentício, guardados os limites máximos de emprego, dependendo da natureza do alimento, sendo que em carnes e produtos cárneos, sua utilização é permitida apenas nas superfícies dos embutidos (BRASIL, 1999).

2.7 EXTRATOS DO URUCUM

Segundo Carvalho (1989), na extração do corante da semente do urucum predominava, inicialmente, o processo artesanal, onde as sementes eram imersas em água quente, seguidas de evaporação e a massa resultante era comercializada envolta em folhas de bananeira. Atualmente, os processos envolvidos na extração destes pigmentos vão desde o uso de solventes até a utilização de enzimas.

Em função da forma de extração empregada, podem ser obtidos os seguintes componentes (SATO *et al.*, 1992 e GHIRALDINI, 1989, *apud* FARIA, 1998):

- a) Bixina: principal componente colorido da extração lipossolúvel. Constitui-se num éster monometílico da norbixina, a qual é produzida através de hidrólise deste éster.
- b) Norbixina: principal componente colorido da extração alcalina aquosa. O extrato é obtido por hidrólise da bixina, durante a extração.

- c) Norbixato de sódio ou de potássio: extrato salino produzido quando as sementes são tratadas com soluções de NaOH ou KOH em temperaturas abaixo de 70°C, resultando em um extrato hidrossolúvel. Este produto é por vezes considerado como um aditivo sintético para alimentos, por ser composto de norbixina e um álcali.
- d) Extrato concentrado de urucum: corantes na forma bruta extraída, normalmente, utilizando-se solventes orgânicos, visando obter concentrações elevadas de bixina, chegando-se a valores de 20 a 80% deste corante.
- e) Pigmento bruto: pó obtido por extração mecânica da semente.

Takahashi (1987) descreve as principais características dos dois extratos normalmente comercializados que são:

O extrato de urucum lipossolúvel apresenta cor vermelha a castanho-avermelhada, enquanto que o extrato de urucum hidrossolúvel, apresenta cor castanho-avermelhada a castanho, e o pigmento puro apresenta-se normalmente como pó vermelho escuro.

O extrato de urucum lipossolúvel deve conter no mínimo 0,2% de carotenóides expressos como bixina e o extrato de urucum hidrossolúvel deve conter no mínimo 0,2% de carotenóides expressos como norbixina.

Diversas pesquisas têm sido realizadas para a determinação da melhor metodologia de extração da bixina das sementes do urucum, das quais destacam-se:

Póvoa (1992) refere-se a trabalhos realizados nas décadas de setenta e oitenta com solventes orgânicos, usados isoladamente ou em misturas, e extração com soluções alcalinas fortes e fracas, com água.

Em relação a solventes orgânicos, Carvalho (1989) e Póvoa (1992), lembram que esse tipo de extração está limitado pela utilização de um solvente que seja compatível com o emprego do produto final, e que a utilização do corante em alimentos proíbe o uso de uma série de solventes, pela toxicidade que seus resíduos apresentam.

Carvalho (1989) também explica que a vantagem da utilização de solventes orgânicos sobre o uso de soluções alcalinas na extração do corante é que, no primeiro caso, obtém-se a bixina, que é o carotenóide natural do urucum, enquanto no segundo caso há uma transformação química na molécula, dando origem ao norbixato ou norbixina.

O norbixato, que é o corante comercializado na forma de sal, permite o uso em alimentos contendo baixos teores de óleo, ampliando a faixa de utilização dos corantes de urucum.

Conforme informações de Carvalho (1991), a acidificação do extrato alcalino das sementes de urucum, esquematizada na Figura 2.5, possibilita a precipitação da norbixina, que após separação é comercializada.

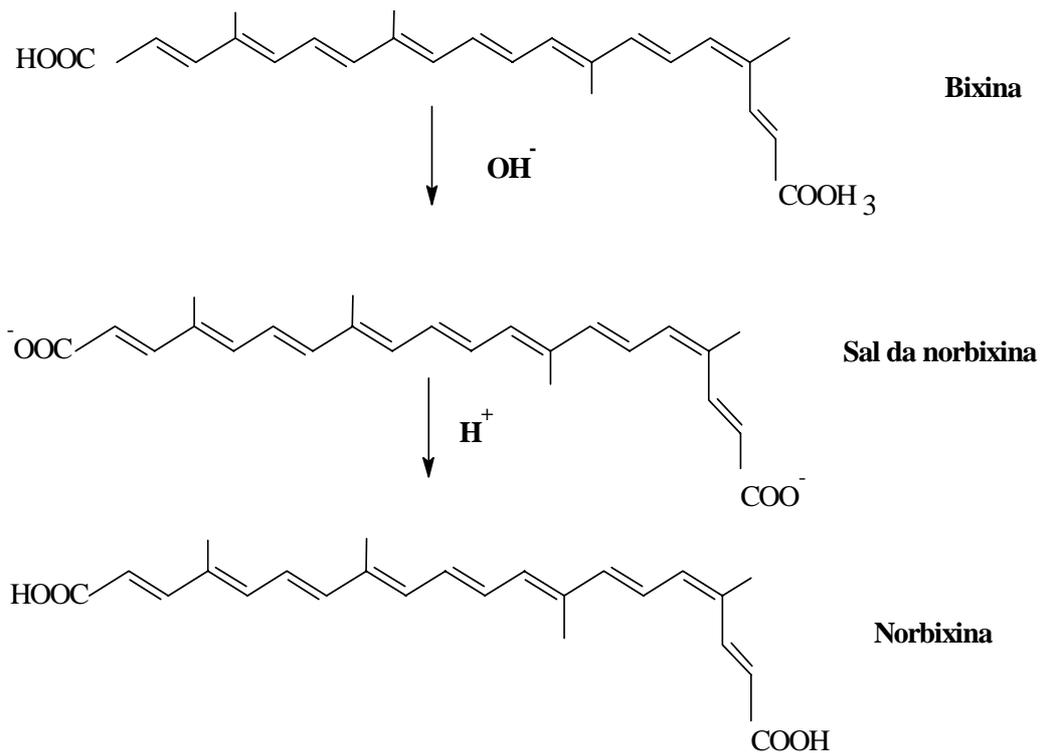


Figura 2.5 Esquema da acidificação do extrato alcalino do corante das sementes de urucum

Pimentel (1995) cita as soluções aquosas de Hidróxido de Sódio ou Potássio, como as mais utilizadas para a obtenção do extrato alcalino, e realiza testes com solução de Hidróxido de Amônio.

De acordo com Urucum (2001), é tecnicamente possível obter soluções contendo mais de 5% de norbixina, mas na prática 2,5% é o máximo que se obtém, sendo as soluções com aproximadamente 1% as mais comercializadas. Essas soluções podem também ser secadas em “*Spray Dryer*” (atomização), para obter um pó fino, cuja concentração pode chegar até 15%.

Canto *et al* (apud FARIA,1998) apresentaram fluxogramas dos processos de extração de pigmentos de urucum, utilizando solvente orgânico, soluções alcalinas e óleo comestível. Nos três processos, os grãos de urucum são inicialmente pesados e colocados em recipiente extrator provido de agitador, juntamente com o solvente (óleo comestível, álcool ou solução alcalina), permanecendo um tempo determinado sob agitação. Finda a operação de extração, o material líquido resultante é peneirado, seguindo-se as demais etapas conforme especificado em cada fluxograma, que estão descritos nas Figuras 2.6, 2.7 e 2.8.

Prentice-Hernandez e Rusig (1992) apresentaram um fluxograma utilizando como solvente, uma solução de água em álcool etílico (1:4 v/v), contendo hidróxido de sódio diluído, separando o corante do solvente através de precipitação, após neutralização com solução de ácido sulfúrico. O processo foi conduzido à temperatura ambiente. Foram obtidos extratos em várias condições de concentração de NaOH, e o melhor extrato apresentou 73,35% de bixina, a um pH de 10,74.

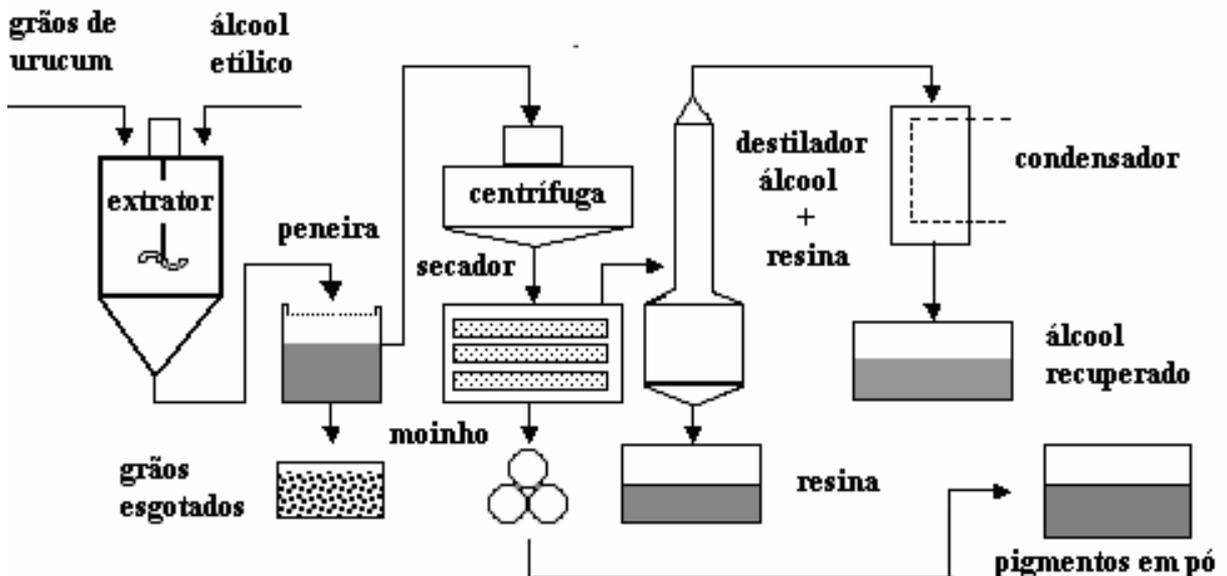


Figura 2.6. Processo de extração de pigmentos de urucum utilizando álcool etílico.

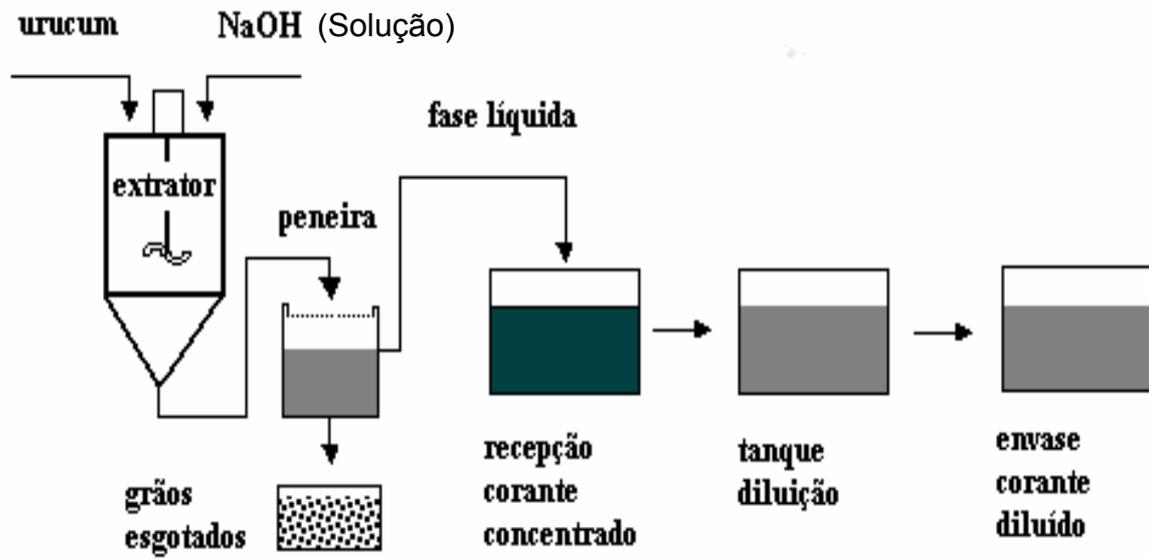


Figura 2.7. Processo de extração de corante de urucum através de soluções alcalinas.

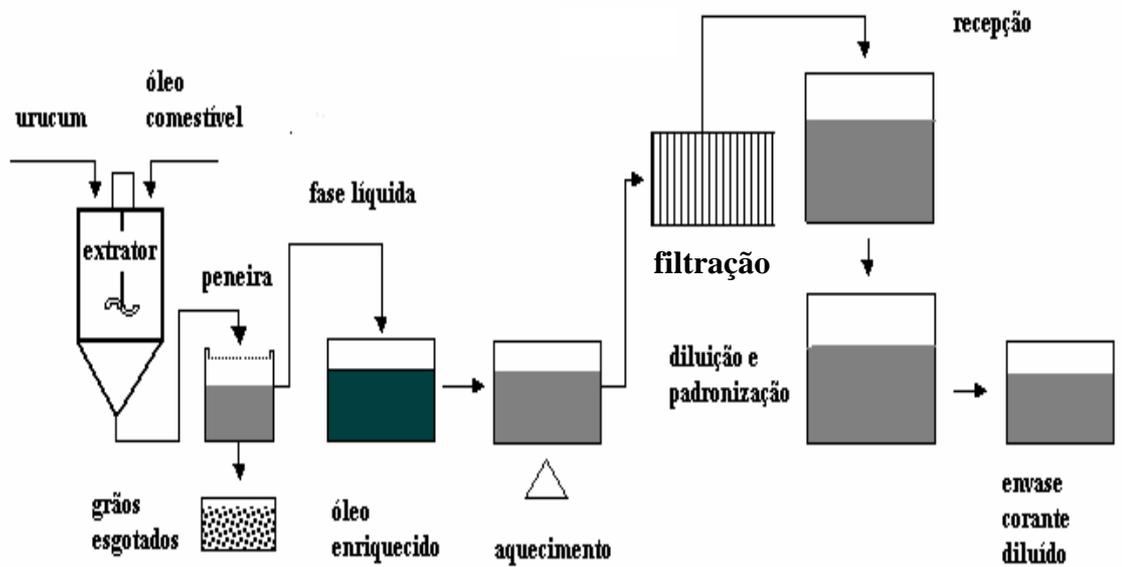


Figura 2.8. Processo de extração de bixina utilizando óleo comestível como solvente.

Póvoa (1992) utilizando extrações parciais, sob agitação vigorosa, avaliou a eficiência da extração do corante de urucum em quatro processos diferentes : 1) com etanol a 95%; 2) água; 3) óleo de soja e 4) solução aquosa de KOH 0,5%; analisando o teor de pigmentos na semente antes e após a extração com cada solvente, conclui que os melhores solventes extratores são o etanol e o KOH, com os quais obtém-se aproximadamente 98% de extração dos pigmentos da semente. O produto corante obtido com óleo de soja foi o que apresentou menos impurezas, sendo o produto resultante constituído em cerca de 92,6% por apenas pigmento e óleo. As extrações foram conduzidas à temperatura ambiente, exceto com óleo de soja, que se realizou a 70°C.

Prentice-Hernandez e Rusig (1992) utilizaram etanol para obter corante de urucum em pó, produziu-se um concentrado com 65,47% de bixina.

Penna Jr. e Faria (1995), também utilizando etanol, estudaram a influência de parâmetros operacionais no processo de extração de corantes de sementes de urucum. Observaram que a temperatura, a relação entre massa de semente e massa de solvente e a combinação de ambas, foram as variáveis influentes no rendimento do processo. O tempo não teve significância após 40 minutos de extração.

Pimentel (1995) avaliou a eficiência de extração utilizando como variáveis de entrada a seleção e a concentração de solventes, o número de re-extrações viáveis e a melhor relação massa/volume entre semente e solução extratora. Concluiu que a concentração e o tipo da solução extratora apresentaram efetiva influência no processo de extração dos corantes de urucum e que a solução de hidróxido de amônio 0,52N em etanol a 58% e a de KOH 0,1N, foram as concentrações mais eficientes para a extração dos pigmentos.

Carvalho (1989) cita que além dos processos de extração por solventes, a bixina também pode ser extraída por processos puramente mecânicos, por meio de técnicas físicas simples de raspagem ou atrito entre grãos que promovem a separação da camada externa rica em bixina. Contudo esses processos geralmente apresentam baixo rendimento em bixina, em função de que junto com o material corante muitas impurezas também são arrastadas, comprometendo, assim, a qualidade do produto final.

Conforme observações de Canto *et al* (apud FARIA, 1998), uma dificuldade encontrada no processo de extração mecânica dos corantes totais, deriva da forma

do grão de urucum, o qual apresenta, em geral, superfícies com reentrâncias de difícil acesso mecânico, onde se aloja parte dos pigmentos.

Com relação a extração de bixina com fluídos pressurizados, alguns trabalhos foram realizados, como o de Chao *et al* (1991), que extraíram os pigmentos totais contidos em sementes de urucum utilizando CO₂ supercrítico, com diferentes pressões e temperaturas. Apesar de conseguirem produtos com excelente grau de pureza, o rendimento do processo foi muito baixo.

2.8 ESTABILIDADE DOS CORANTES DE URUCUM

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas com os carotenóides, especialmente bixina e norbixina, sobre estabilidade a fatores tais como pH, luz, oxigênio e atividade de água, mas nos aspectos mais significativos para aplicação em alimentos, destacam-se:

A bixina é sensível à variação de pH, mudando de amarelo-alaranjado para uma tonalidade rosa em baixo pH. Quanto à temperatura, a estabilidade é boa até 100°C, mas cai rapidamente quando acima de 125°C. A exposição ao ar não apresenta problemas. A estabilidade à luz da bixina, apesar de ser um carotenóide, pode ser considerada de média a alta. Na ausência de luz a bixina é totalmente estável.

Por ser estável na presença de agentes redutores e oxidantes, a bixina supera algumas das desvantagens dos corantes sintéticos do tipo azo, os quais têm elevada reatividade em relação aos agentes oxidantes (cloro, hipoclorito), e redutores (dióxido de enxofre, ácido ascórbico e cítrico, e alguns flavorizantes).

A norbixina é conhecida por sofrer precipitação em produtos ricos em íons de cálcio, ou de alta acidez, ou simplesmente mantidos em baixas temperaturas. Reage com proteínas, ligando-se a elas, com uma ligeira mudança de cor para uma tonalidade entre o pêssego e o vermelho; às vezes observada em alguns queijos contendo urucum. Essa propriedade de ligar-se às proteínas é particularmente interessante para dar cor em produtos, de forma localizada, sem que haja invasão de corantes nas partes vizinhas, como salsicha, por exemplo (URUCUM 2001) .

Prentice-Hernandez (1994) avaliou a estabilidade à temperatura dos extratos obtidos pelo método alcalino. Destaca-se: o maior percentual de perda em bixina situa-se nas primeiras duas horas de secagem, para todas as concentrações

estudadas. Nesse trabalho observou-se também que dos cinco extratos avaliados os dois extraídos com soluções de menor percentual de NaOH (0,2% e 0,3%) apresentaram perdas menos significativas que os extratos de maior concentração (0,4%, 0,5% e 0,6%), após 12 horas de secagem.

Pimentel (1995), em avaliação de métodos de obtenção e da estabilidade de pigmentos de sementes de urucum, estudou a estabilidade do extrato alcalino norbixato de potássio, em presença e ausência de luz e oxigênio, com e sem adição de maltodextrina ao corante. Neste trabalho destacam-se as seguintes conclusões:

- Nas extrações com soluções aquosas de KOH, os melhores rendimentos em bixina obtidos foram na concentração de 0,6% (m/v). Concentrações menores que 0,6% apresentam rendimentos proporcionais ao percentual de KOH e concentrações maiores apresentam rendimentos inversamente proporcionais às concentrações de KOH;
- Os rendimentos de extração foram proporcionais à relação volume de solução extratora e massa de sementes, mas a partir da relação 6/1 os ganhos de rendimentos médios de extração não foram tão significativos.
- A temperatura e o tempo de concentração apresentaram influência significativa nas perdas de norbixato e no aumento do teor de sólidos totais durante a desidratação de extratos de urucum em evaporador rotatório à vácuo. As temperaturas de 55 e 65°C foram menos degradáveis com o aumento do teor de sólidos.
- Na produção de corantes de urucum em pó, por meio de precipitação ácida, a partir de extratos obtidos com solução aquosa de KOH 0,1N e solução alcoólica de NH₄OH 0,56N, após a etapa de secagem do extrato de KOH a vácuo por 6 horas, houve uma perda de 12,86% de norbixina.,

Póvoa (1996) utilizou amostras obtidas pela extração com etanol, com óleo de soja e com solução de KOH 0,5%, submetidas às condições explicitadas na Tabela 2.11. Após 40 dias para o extrato alcalino e 90 dias para os extratos etanólico e oleoso, o autor concluiu que a ausência de ar ou a redução da temperatura de 25°C para 15°C são as condições que mais contribuem para o aumento da vida útil dos corantes que contêm bixina. No extrato alcalino contendo norbixina, a ausência de ar foi a condição determinante da vida útil do corante.

Tabela 2.11. Tempo de meia-vida de extratos: etanólico, oleoso e alcalino, submetidos a diversas condições de estocagem

Condição	Extratos		
	Etanólico	Oleoso	Alcalino
25°C, ar, luz	98	219	8
25°C, s/ar, s/luz	201	1232	238
25°C, s/ar, luz	160	519	198
25°C, ar, s/luz	134	226	15
15°C, ar, luz	275	725	10

Fonte: Pova (1996)

Faria (1998) analisou o processo de secagem de urucum em leito fixo, do cultivar Piave Vermelha, e estimou experimentalmente as condições ótimas de processo, de modo a minimizar as perdas de corante e obter teores finais de umidade dos grãos em nível adequado à sua conservação e manutenção de qualidade, em função de variáveis operacionais de processo de secagem convectiva. O autor verificou que o teor final de bixina é influenciado significativamente apenas pelo tempo de secagem, ou seja, pela variável que mede a influência da ação da luz e oxigênio na matéria prima produtora de corante, concluindo que o processo pode ser descrito adequadamente por um modelo linear.

Prentice-Hernandez e Rusig (1999) estudando o efeito da luz a 900 lux na estabilidade de um extrato microencapsulado hidromiscível, obtido a partir do urucum, e comparando com outro extrato purificado de bixina, chegaram à conclusão de que a bixina contida no extrato encapsulado apresentou maior estabilidade à luz do que o extrato obtido do processo de purificação da bixina.

Ferreira (2001) pesquisando a fotodegradação de corantes de urucum no processo de tingimento de fibras vegetais, concluiu que a utilização de antioxidantes inibe a degradação do corante, mesmo nos maiores períodos de exposição; considerando a faixa experimental do estudo.

Carvalho (2006), em trabalho de avaliação dos teores de bixina de duas cultivares de urucum, sob três condições de secagem (50, 60 e 70 °C), em camada fina, chega à conclusão, que para as condições de processo estabelecidas, a

temperatura foi a variável que apresentou a maior influência na degradação da bixina; chegando a perder até 18% de bixina para temperaturas entre 50° e 70° C.

Ainda que não se consiga total estabilização de carotenóides, cuidados especiais tomados para inibir sua degradação e conseqüentemente assegurar maior tempo de conservação destas substâncias são aconselhados, para a preservação de suas características originais. Portanto, é fundamental o acondicionamento em temperaturas reduzidas , abaixo de 0°C, além da total proteção contra radiação luminosa (OLIVEIRA, 2005).

2.9 APLICAÇÕES DE CORANTES DE URUCUM EM ALIMENTOS

Embora haja muitas limitações técnicas para o emprego do urucum como corante em alimentos, elas aos poucos estão sendo superadas graças a estudos realizados, que a cada dia executam mudanças mais técnicas, como o lançamento em 2003 de um corante de urucum resistente a pH ácido (abaixo de 3), para torná-lo possível de ser aplicado em refrigerantes e sucos .

A utilização do urucum em combinação com outros corantes é outro fator positivo. Um composto a base de urucum e cúrcuma pode substituir o uso de beta caroteno sintético na fabricação de macarrões (CORANTES, 2000).

Existem muitas aplicações para o urucum, algumas mais tradicionais, outras menos conhecidas. A literatura enumera diversas aplicações, que são resumidas nas Tabelas 2.12 e 2.13.

Tabela 2.12. Usos de corantes de urucum em alimentos

Princípio ativo	Apresentação	Principais aplicações
0,35 – 1,12% Norbixina	Líquido hidrossolúvel	Salsichas, queijos, iogurtes, sorvetes, extrusados.
0,23% Bixina	Líquido oleossolúvel (solução)	Manteiga, extrusados, recheios de biscoitos.
3,0 a 10% Bixina	Líquido oleossolúvel (suspensão)	Margarinas, coloríficos, extrusados.
1,0% Norbixina	Pó hidrossolúvel (maltodextrina)	Sobremesa em pó, bebidas lácteas em pó, produtos de panificação.
20% de Bixina	Pó microencapsulado	Bebidas, misturas em pó, confeitos, extrusados.

Fonte: CHR HANSEN Ind. e Com. Ltda. – Valinhos – SP, (Segundo KATO *et al*, 1998)

Tabela 2.13. Usos de extratos de urucum em alimentos

Extrato	Forma	Pigmento	Concentração ¹	Tonalidade de cor	Aplicações
	Líquido	Bixina	Baixa	Amarelo	Massas, recheios, cobertura de doces e molhos
Lipossolúvel	Líquido	Bixina	Baixa	Amarelo-alaranjado	Margarinas, cremes vegetais, queijos, recheios e coberturas de doces e molhos
	Líquido	Bixina	Alta	Laranja-avermelhado	Sopas, molhos, temperos e coloríficos
	Líquido	Norbixina	Baixa	Amarelo-alaranjado	Massas, sorvetes, bebidas, iogurtes e queijos
Solúveis em água e emulsões	Líquido	Norbixina	Moderada	Laranja	Margarinas, cremes vegetais, queijos, bebidas, iogurtes e sorvetes
	Líquido	Norbixina	Baixa	Amarelo claro	Massas, sorvetes, bebidas, iogurtes e doces
	Líquido	Norbixina	Moderada	Laranja-amarelado	Salsichas e embutidos, cereais, biscoitos e queijos
	Líquido	Norbixina	Alta	Laranja	Iogurtes, sorvetes, bebidas, doces, misturas para bolos.
Hidrossolúvel	Pó	Norbixina	Alta	Laranja	Massa, sopas e temperos
	Pó	Norbixina	Alta	Laranja	Sorvetes, misturas secas e cereais
	Pó	Bixina	Bixina	Laranja	Uso doméstico
Colorífico	Pó	Bixina	Bixina	Laranja-avermelhado	Tempero e sopas

¹ Baixa: 0,1% a 0,5%; Moderada: 0,6 a 2,4%; Alta: 2,5 a 6% Fonte: Liotécnica Indústria e Comércio Ltda. (Segundo KATO *et al*, 1998)

2.10 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Os experimentos fatoriais são especialmente utilizados quando se deseja estudar o efeito na variável de resposta, da combinação de vários fatores de controle. Um caso de projeto fatorial é o 2^k , onde k representa o número de variáveis, ou fatores, e 2 o número de níveis, ou valores e qualidade que estas k variáveis podem assumir.

Os projetos fatoriais completos exigem um grande número de combinações de testes experimentais. Atualmente utilizam-se os projetos fatoriais fracionários, onde são desprezados os efeitos de mais alta ordem, que na prática, não influenciam significativamente a variável de resposta; diminuindo consideravelmente o número de experimentos, o que é desejável economicamente (COSTA ; FARIA, 1998).

A metodologia de superfície de resposta (ou MSR) é uma técnica de otimização de processos e consiste de um grupo de técnicas usadas no estudo empírico de relações entre uma ou mais variáveis de entrada e a resposta (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978).

A modelagem matemática via MSR normalmente é feita ajustando-se modelos simples (em geral, lineares ou quadráticos) às respostas obtidas experimentalmente, com base em planejamentos fatoriais tipo 2^k completos ou fracionados (BARROS NETO *et al*, 2003).

A técnica vem sendo empregada para resolver questões do tipo (TAKEDA; COSTA; FARIA, 1998):

- como uma resposta em particular é afetada por um dado conjunto de variáveis de entrada em um espaço amostral de interesse;
- que conjunto de condições específicas das variáveis de entrada produz um rendimento máximo para uma resposta específica, e qual a superfície de resposta que contém esse máximo;
- que valores específicos das variáveis de entrada produzem um rendimento máximo para uma resposta específica, e qual a superfície de resposta que contém esse máximo.

Como exemplo de aplicação desta técnica pode-se citar entre outros, o trabalho de Costa e Faria (1998), cuja finalidade foi a otimização do processo de extração de óleos vegetais, utilizando a metodologia de superfície de resposta.

Faria (1998) utilizou técnicas de planejamento fatorial fracionário e metodologia de superfície de resposta, para quantificar a influência das variáveis de entrada na secagem de sementes de urucum, nos teores finais de umidade e bixina, com a identificação do ponto ótimo do processo.

Ferreira (1999, 2001), estudou a estabilidade de extratos de sementes de urucum em processo de tingimento de fibras vegetais, demonstrando que a análise estatística através da metodologia de superfície de resposta é um instrumento adequado à otimização do processo de extração de corantes naturais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Matéria-prima

- Identificação e procedência

As amostras foram de um híbrido que se encontra em fase de desenvolvimento, resultado do cruzamento das Cultivares Piave Vermelha (pai) e Peruana Paulista (mãe), cedidas pela Embrapa - CPATU. Como ainda não foi definida uma denominação para essa variedade, nesse trabalho será chamada simplesmente por “EMBRAPA” .

O material foi coletado do plantio experimental localizado no CPATU. A colheita foi realizada com tesoura de poda, de frutos que ainda não apresentavam aspectos de secos. As cápsulas foram acondicionadas em sacos plásticos (ráfia) e transportadas até o laboratório de Engenharia Química da UFPA.

- Etapas do tratamento:

Pré-secagem: As cachopas foram separadas dos talos e folhas, sendo acondicionadas em bandejas metálicas com área de 1 m², e expostas ao sol por 8 horas. Em seguida foram colocadas em secador de bandejas com circulação forçada de ar, por mais 4 horas, até umidade final de 16%.

Descachopamento: Realizado manualmente com auxílio de uma faca. Os grãos foram separados das cápsulas cuidadosamente para que não houvesse perda significativa de massa corante por atrito, em seguida foram acondicionados em bandejas de alumínio de 40cm x 60cm.

Secagem: Realizado em secador de bandejas, em escala piloto, marca FABBE, com circulação forçada de ar, a temperatura média de 58°C até alcançar o teor de umidade desejado (10,00 % b.u.).

Seleção e peneiramento: Após secagem os grãos foram submetidos ao processo de limpeza, através de separação manual e peneiramento, este último somente com objetivo de limpeza.

Acondicionamento e armazenagem: Os grãos foram pesados e acondicionados em sacos duplos de papel Kraft, em porções de 200g \pm 0,01g. Em seguida, foram armazenados à temperatura de -2°C , até a realização dos experimentos e análises.

3.1.2 Equipamentos e reagentes

Os principais equipamentos utilizados nas análises foram:
Espectrofotômetro UV/Visível marca Pharmácia Biotech, modelo Ultrospec2000;
Destilador de Nitrogênio, Marca Marconi, modelo MA 036;
Extrator Soxhlet, marca Tecnal, Modelo TE 044;
Estufa de secagem, marca FABBE;
Mufla, Marca FABBE;
Centrífuga Marca Sigma, modelo 2 K15;
Balança Analítica, marca Chyo, modelo 5L-200g.

Os reagentes utilizados foram da marca Nuclear e Reagem.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Caracterização física e determinação da composição centesimal

Do material beneficiado foram retiradas amostras, em triplicata, para determinação do teor de umidade e conteúdo de bixina, realizados pelo método direto em estufa a 105°C por 24h (AOAC, 1997) e pelo método KOH (YABIKU e TAKAHASHI, 1991), respectivamente.

Realizaram-se os seguintes testes de caracterização física e química dos grãos:

Caracterização física: determinou-se o comprimento e o diâmetro dos grãos com auxílio de um paquímetro marca Mitutoyo, com precisão de \pm 0,05 mm; pesagem dos grãos e contagem do número de sementes por cachopas. Análises a partir de amostras de 200 grãos de urucum e 100 cachopas respectivamente.

Composição centesimal dos grãos de urucum: Determinada através de análises químicas efetuadas por métodos padronizados, com amostras em triplicata. O conteúdo de umidade, proteínas, cinzas e lipídios são baseados nos métodos analíticos da AOAC (1997). O teor de carboidratos foi estimado por diferença, e a concentração de bixina pelo método KOH padronizado por Yabiku e Takahashi (1991), conforme descrito no item 3.2.2. As análises efetuadas e as referências metodológicas estão indicadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Análises químicas dos grãos, métodos e referências

Análise	Método	Referência
Umidade	Aquecimento em estufa a 105°C por 24h	(AOAC, 1997)
Proteína	Método Kjeldahl (N x 6,25)	(AOAC ,1997)
Cinzas	Resíduo por incineração em mufla a 550°C	(AOAC ,1997)
Extrato etéreo	Extração por solvente em aparelho Soxhlet	(AOAC 1997)
Bixina	Reação de Bixina com KOH	(YABIKU; TAKAHASHI, 1991)

3.2.2 Métodos de análise de bixina dos grãos de urucum

Dois métodos são utilizados para a determinação de bixina, o método do Clorofórmio, que utiliza sementes moídas e o método do KOH que utiliza sementes inteiras. Ambos foram uniformizados após trabalho de um grupo de estudos, especialmente designado para isso, durante o I Seminário de Corantes Naturais para Alimentos, realizado em Campinas (ITAL), em 1988. Os resultados foram apresentados durante o II Seminário de Corantes Naturais para Alimentos, também realizado em Campinas (ITAL) em 1991. O método escolhido para as análises foi o de KOH, pela sua precisão e por necessitar um menor número de amostras.

Método do KOH

Pesar com precisão de mg, cerca de 25 g de amostra em um erlenmeyer de 500 mL. Adicionar 150 mL de solução de KOH a 5% fervente. Aquecer até ebulição mantendo-a por um minuto. Esfriar em água corrente. Filtrar através de lã de vidro para um balão volumétrico de 1000 mL e lavar o resíduo com 100 mL de água destilada. Repetir o processo de lavagem por mais sete vezes. Completar o volume com água destilada. Retirar uma alíquota de 2mL desta solução e transferir para um balão volumétrico de 1000 mL, completando-o com solução de KOH a 0,5%. Fazer a leitura em espectrofotômetro à 453nm, em célula de 1cm de percurso óptico, usando como branco a solução de KOH a 0,5%.

A concentração de norbixina é encontrada usando o coeficiente específico de extinção:

$$E_{1cm}^{1\%} = 3473$$

O teor de norbixina encontrado multiplicando pelo fator 1,037 é igual ao teor de bixina na amostra e deve-se multiplicar esse resultado pelo fator de correção 1,1601, para equiparar o teor de bixina encontrado, com o método de Clorofórmio. Esse fator de correção foi estabelecido através de análises realizadas por dez laboratórios participantes, a nível nacional, em cinco amostras de sementes de urucum, pelos dois métodos em questão (YABIKU; TAKAHASHI,1991).

Na ausência de um padrão confiável de bixina e norbixina, realizaram-se varreduras para identificar o ponto de máxima absorbância, conforme mostrado na Tabela 3.2, e Figura 3.1, que confirmam o valor de 453 nm como o pico máximo para a norbixina, conforme preconiza a literatura.

Tabela 3.2. Pontos máximos de absorvância para amostras de norbixato de potássio em solução alcalina, na faixa de 450 a 560 nm

λ (nm)	1 A	2A	3A	IA	IIA	IIIA
450	0.468	0.247	0.389	0.647	0.445	0.446
451	0.473	0.249	0.393	0.654	0.449	0.450
452	0.476	0.251	0.396	0.659	0.453	0.454
453	0.477	0.252	0.396	0.661	0.454	0.456
454	0.477	0.251	0.396	0.661	0.454	0.455
455	0.474	0.25	0.394	0.658	0.452	0.453
456	0.470	0.247	0.39	0.652	0.448	0.449
457	0.464	0.244	0.385	0.644	0.442	0.444
458	0.458	0.241	0.379	0.635	0.436	0.437
459	0.449	0.236	0.373	0.623	0.428	0.429
460	0.440	0.232	0.365	0.611	0.420	0.421

A: Absorbâncias das amostras λ : comprimento de onda (nm)

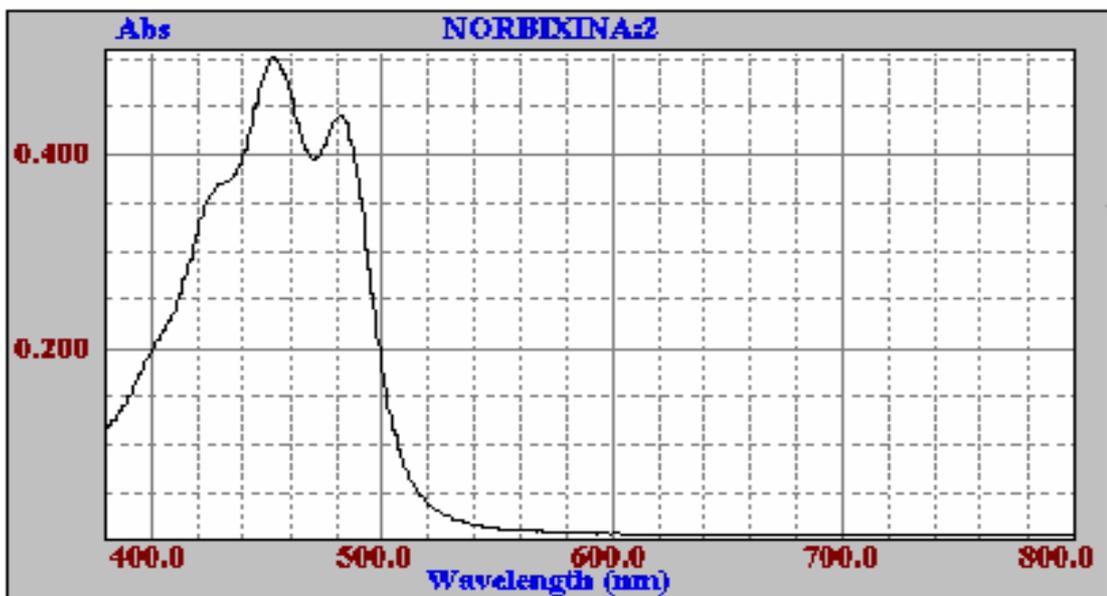


Figura 3.1. Varredura de uma amostra de norbixato de potássio em solução alcalina

3.2.3 Ensaio analítico dos extratos obtidos

Os ensaios para determinação das concentrações de bixina, de caracterização física e as purificações dos corantes obtidos foram realizadas no LEPRON, conforme metodologia descrita por Yabiku e Takahashi (1991); método espectrofotométrico. Esta metodologia foi adaptada conforme descrito a seguir:

No lugar de 25 gramas de sementes, foram analisados 2 gramas de massa corante, quantidade estabelecida para que a absorvância fique situada em valores entre 0,100 a 1,00, obedecendo à lei de Beer. As demais etapas foram como descritos no item 3.1.4. O teor de umidade das amostras foi determinado conforme metodologias descritas pela AOAC (1997).

3.2.4 Metodologia de extração

- Sistema de Extração por Recirculação de Solvente (SERS)

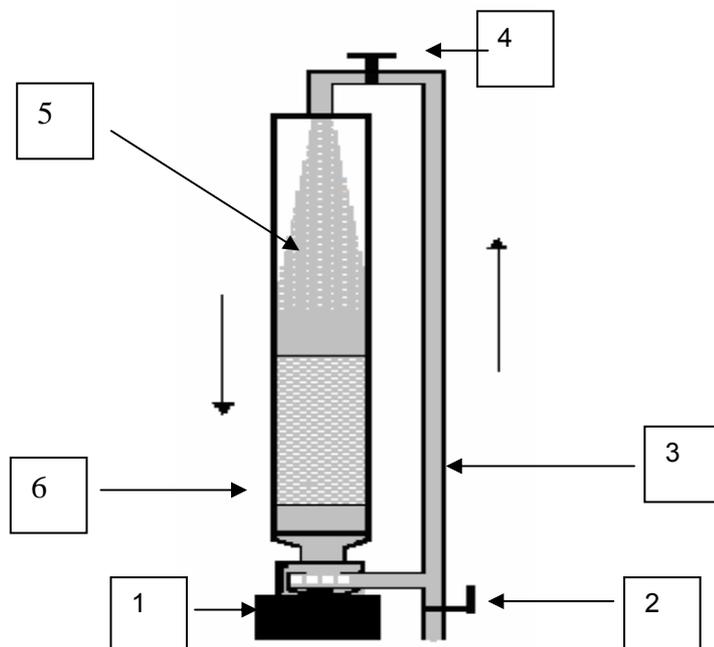
As extrações normalmente realizadas com urucum envolvem agitação vigorosa, em que os grãos, além da ação do solvente, sofrem também atrito. Desta forma outros componentes dos grãos, principalmente carboidratos e proteínas, são acrescentados à massa resultante, concorrendo para a obtenção de um extrato com menores teores de bixina, o que em certos casos, exige operações posteriores de purificação, que oneram o custo do produto final.

A proposta de utilização do método de extração, denominado de Sistema de Extração por Recirculação de Solventes (SERS), baseia-se no princípio de que as substâncias corantes do urucum estão aderidas superficialmente aos grãos, podendo ser extraídas apenas por processo de solubilização, sendo que a recirculação do solvente exercerá uma condição de arraste sobre a superfície de cada grão, estabelecendo-se uma condição de agitação, sem os inconvenientes de um agitador mecânico. Por meio dessa técnica espera-se que os teores de corantes obtidos sejam compatíveis ou superiores aos de outros processos de extração, justificando o processo alternativo proposto. As extrações foram realizadas à temperatura ambiente (26°C), com vazão de circulação do líquido extrator de 900 L/h.

- Descrição do processo de extração do corante

O processo escolhido para obtenção do corante, Extração por Solução Alcalina, tem como produto, após a neutralização do extrato líquido, a norbixina. O processo é executado com a utilização do SERS. O esquema do aparato (sem escala) está detalhado na Figura 3.2, e a seqüência das principais etapas de operação de extração é:

- 1) Confinamento dos grãos no corpo do aparelho extrator;
- 2) recirculação do solvente através dos grãos de urucum, nas condições pré-estabelecidas no planejamento experimental para as variáveis de entrada;
- 3) separação da solução extratora;
- 4) filtração do extrato;
- 5) encaminhamento do extrato para as demais etapas do processo, conforme fluxograma apresentado na Figura 3.3.



1- Bomba centrífuga, 2- Registro de retirada do extrato, 3-Tubulação de refluxo, 4- Registro de topo, 5- Líquido extrator, 6- Leito de sólidos.

Figura 3.2. Aparato experimental utilizado na extração de norbixina

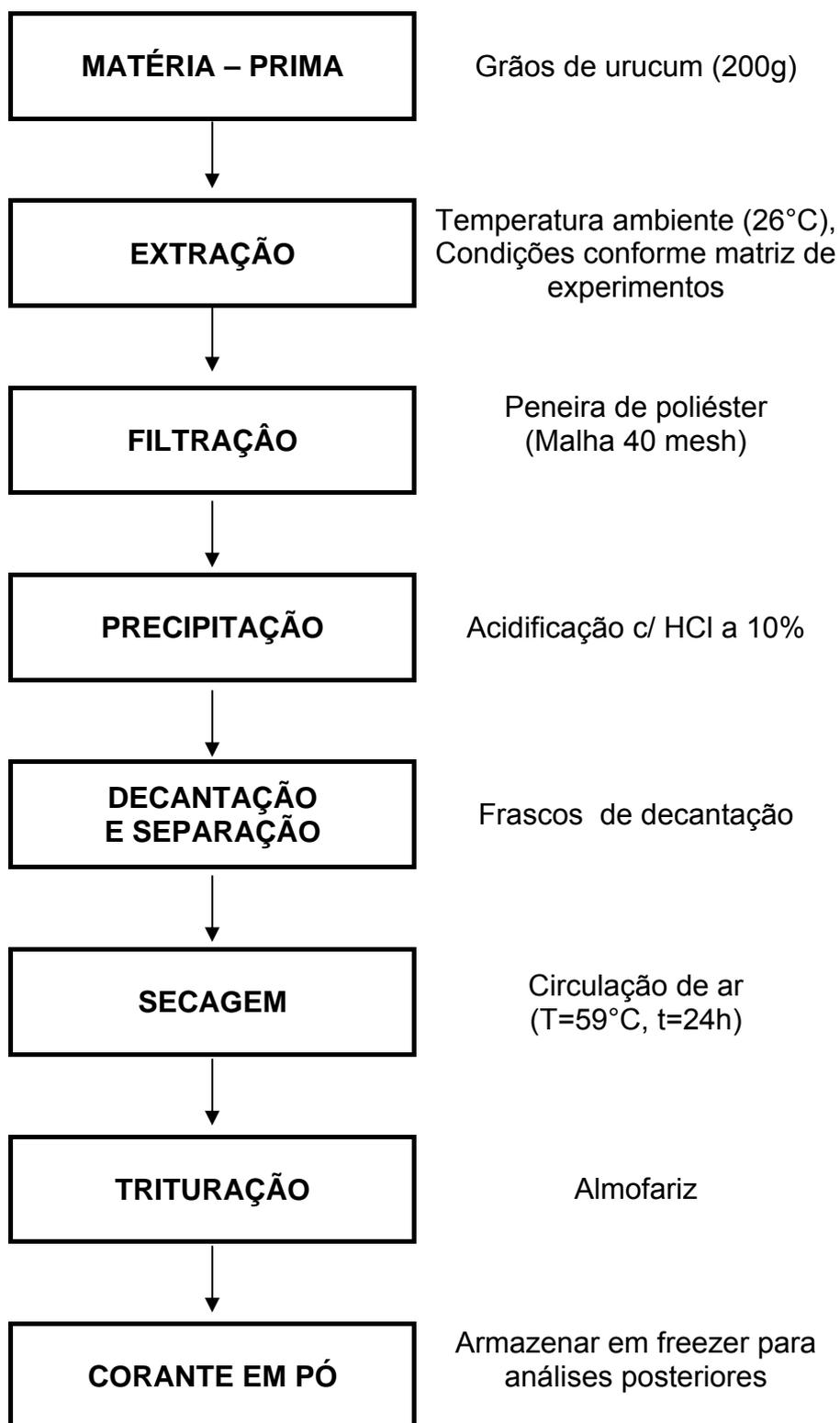


Figura 3.3. Fluxograma de obtenção de norbixina em pó.

O aparato de extração consta de um recipiente tubular, em aço inoxidável, acoplado a uma bomba centrífuga de baixa potência; registros; dreno; peneira cilíndrica em aço inoxidável, para acomodação dos grãos; tubulação para retorno do solvente ao topo do recipiente.

Durante as corridas experimentais, realizadas em batelada, foram mantidos constantes os seguintes parâmetros e respectivos valores: vazão do solvente circulante (900 L/h), carga de grãos (200g) e temperatura média de extração (26°C).

Para as extrações alcalinas, foram utilizadas soluções aquosas de KOH, com concentrações variáveis, conforme indicado no Planejamento Experimental.

- Concentração e secagem do extrato líquido

O extrato obtido, depois de filtrado, é acidificado com HCl a 10% até um pH médio de 1,5 para precipitação da norbixina, em frasco de decantação, onde foi mantido por 24 horas. Em seguida foi retirado o sobrenadante por meio de sifão. O extrato concentrado foi em seguida submetido à secagem à temperatura média de 59°C, em secador de bandeja com circulação forçada de ar. A massa resultante foi triturada em almofariz, obtendo assim o corante em pó, que foi então pesado, acondicionado em frasco plástico opaco envolvido em filme de alumínio, e armazenado a -2°C, de onde foram retiradas amostras para as análises para caracterização do produto final.

A temperatura adotada para a secagem do extrato foi aproximadamente 60°C, considerando os estudos de Prentice-Hernandez (1994) e Pimentel (1995). Segundo os autores a partir de um concentrado com aproximadamente 10% de sólidos, com volume em torno de 800 mL, mesmo à temperaturas mais altas, o tempo de secagem seria longo, ocasionando uma considerável velocidade de degradação da bixina.

Para o caso de se usar temperaturas mais baixas que 60°C, o tempo de secagem seria excessivamente longo, não justificando a adoção desta faixa de temperatura, em decorrência da possibilidade de altas perdas pela ação do ar (oxidação). O tempo médio de secagem foi de 24 horas.

3.2.5 Extrações e otimização do processo

- Planejamento Estatístico e Metodologia de Otimização

A otimização do processo de extração foi efetuada por meio da técnica estatística, Metodologia de Superfícies de Resposta (MSR) com auxílio do programa Statistica® 5.0 da Statsoft-USA, nas dependências do LEPRON/UFPA.

As variáveis operacionais de entrada originais e respectivos níveis, conforme a MSR, estão indicadas na Tabela 3.3. A matriz de planejamento contendo as variáveis de entrada codificadas e originais (reais), e as variáveis de resposta de forma literal, são mostradas na Tabelas 3.4. As respostas elegidas foram rendimento em massa de corantes totais, $R_m(\%)$ e teor de bixina, $B_i(\%)$.

Tabela 3.3. Variáveis e níveis para a otimização da obtenção de norbixina

Variáveis	Símbolo (unidade)	Níveis codificados				
		-1,68	-1	0	+1	+1,68
Relação solvente/semente	ϕ (adim)	4,32	5,00	6,00	7,00	7,70
Concentração de solução	C_s (%)	0,43	0,50	0,60	0,70	0,77
Tempo de extração	t (min)	26	40	60	80	94

- Extrações conforme MSR.

Realizaram-se as extrações conforme a matriz de planejamento apresentada na Tabela 3.4, sendo que as corridas foram realizadas em ordem aleatória, indicada entre parênteses, para minimizar erros sistemáticos.

Depois de realizadas as corridas e obtidas as variáveis de resposta, partiu-se para a análise e interpretação dos efeitos das variáveis isoladas e de suas interações nas variáveis de resposta.

Com base na análise das superfícies obtidas e de suas respectivas curvas de nível, determinou-se a região ótima para o processo, ou seja, aquela que fornece os máximos de rendimento em massa $R_m(\%)$ e teor de bixina na massa corante $B_i(\%)$.

Tabela 3.4. Matriz de Planejamento para otimização da extração

Corridas	Variáveis de entrada codificadas			Variáveis de entrada reais (unidade)			Variáveis de resposta	
	X ₁	X ₂	X ₃	Φ(adim)	Cs(%)	t(min)	Rm(%)	Bi(%)
1(10)	-1	-1	-1	5,00	0,50	40	Rm01	Bi01
2 (04)	+1	-1	-1	7,00	0,50	40	Rm02	Bi02
3 (05)	-1	+1	-1	5,00	0,70	40	Rm03	Bi03
4 (18)	+1	+1	-1	7,00	0,70	40	Rm04	Bi04
5 (19)	-1	-1	+1	5,00	0,50	80	Rm05	Bi05
6 (20)	+1	-1	+1	7,00	0,50	80	Rm06	Bi06
7 (12)	-1	+1	+1	5,00	0,70	80	Rm07	Bi07
8 (11)	+1	+1	+1	7,00	0,70	80	Rm08	Bi08
9 (15)	-1,68	0	0	4,32	0,60	60	Rm09	Bi09
10 (14)	+1,68	0	0	7,70	0,60	60	Rm10	Bi10
11 (16)	0	-1,68	0	6,00	0,43	60	Rm11	Bi11
12 (06)	0	+1,68	0	6,00	0,77	60	Rm12	Bi12
13 (03)	0	0	-1,68	6,00	0,60	26	Rm13	Bi13
14 (01)	0	0	+1,68	6,00	0,60	94	Rm14	Bi14
15 (13)	0	0	0	6,00	0,60	60	Rm15	Bi15
16 (07)	0	0	0	6,00	0,60	60	Rm16	Bi16
17 (08)	0	0	0	6,00	0,60	60	Rm17	Bi17
18 (09)	0	0	0	6,00	0,60	60	Rm18	Bi18
19 (17)	0	0	0	6,00	0,60	60	Rm19	Bi19
20 (02)	0	0	0	6,00	0,60	60	Rm20	Bi20

Legenda para as variáveis de entrada codificadas e reais, respectivamente:

X₁, Φ = Relação entre o volume de solvente em ml e massa de grãos em gramas (adimensional) ;

X₂, Cs(%)= Concentração da solução aquosa de KOH em percentual;

X₃, t = Tempo de extração, em minutos.

Legenda para as variáveis de resposta:

Rm(%)= Rendimento das extrações alcalinas, em massa corante em relação à massa da amostra de grãos, em percentual.

Bi(%)= Rendimento em bixina, em relação à massa corante extraída, em percentual.

3.2.6 Otimização pós-extração

Determinou-se o ponto ótimo do processo, localizado na região de otimização e realizaram-se corridas com modificações nos procedimentos pós-extração após a decantação e retirada do sobrenadante, conforme a seqüência:

- Centrifugação a 4000 rpm durante 20 minutos, do extrato concentrado;
- eliminação da fração líquida dos tubos de decantação;
- retirada da massa corante dos tubos de decantação;
- secagem em estufa por 18 horas, com formação de massa pastosa;
- pesagem e armazenamento;
- análises.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS GRÃOS DE URUCUM

Os resultados da análise física dos grãos de urucum utilizados nas extrações para obtenção de norbixina são apresentados na Tabela 4.1 e constituem valores médios de ensaios realizados conforme número de amostras explicitado com a indicação do desvio padrão e do coeficiente de variação, os quais dão uma idéia da variabilidade dos dados experimentais.

Tabela 4.1. Caracterização física dos grãos de urucum

Parâmetro	Unidade	N	s	$x \pm \text{epm}$	CV
Comprimento	mm	200	0,28	$4,3 \pm 0,2$	6,57
Diâmetro	mm	200	0,25	$3,4 \pm 0,2$	7,30
Grãos/cachopa	Unidade	100	6,39	$46,58 \pm 0,06$	13,72
Peso/100grãos	grama	10	0,07	$1,92 \pm 0,02$	3,52

Legenda:

N=N° de amostras; **s**= desvio padrão dos resultados experimentais; **x**=média aritmética dos resultados experimentais; **epm**= erro padrão da média; **CV**=Coeficiente de Variação.

De um modo geral, os valores médios dos diâmetros dos grãos e contagem de grãos por cachopa situam-se dentro da faixa normalmente encontrada na literatura, sumarizada nas Tabelas 2.4 e 2.5, respectivamente. No caso da relação peso por 100 grãos, observa-se que a cultivar estudado neste trabalho obteve a menor média, quando comparada à literatura indicada na Tabela 2.3.

Observou-se também uma baixa variabilidade dos dados nos ensaios e uma boa uniformidade do material, com base nos valores dos erros padrões da média e dos coeficientes de variação encontrados. A exceção foi na contagem de grãos por cachopa, onde os resultados independem de leitura de instrumentos e normalmente existe uma variação significativa de grãos contidos dentro de diferentes cachopas, mesmo tratando-se de cultivar com trato cultural uniforme.

Quanto ao número de amostras é considerado suficiente para as condições do processo, visto que, embora percentualmente os valores possam ser considerados pequenos em relação à população, houve o cuidado de fazer uma

homogeneização do material, além de que as amostras foram coletadas de pontos distintos da população em estudo, melhorando assim com esses cuidados a representatividade dos dados experimentais.

4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS GRÃOS DE URUCUM

Os resultados da análise química dos grãos de urucum, cultivar EMBRAPA, utilizados nas corridas de extração de norbixina, estão indicados na Tabela 4.2 e constituem valores médios de ensaios realizados, contendo os parâmetros estatísticos de tendência central e de dispersão, conforme visto no item anterior, de um modo geral os valores encontram-se dentro da faixa normalmente encontrada na literatura, sumarizada na Tabelas 2.6. A exceção é o teor de extrato etéreo, que está um pouco abaixo dos valores normalmente encontrados.

Tabela 4.2. Composição centesimal de amostras dos grãos de urucum utilizados nas extrações

Constituintes	Quantificação (% b.u.)	N	s	Quantificação (% b.s.) ± epm	CV
Voláteis a 105°C	10,20	10	0,65	11,37±0,21	6,40
Proteínas	12,44	8	0,14	13,83±0,05	1,43
Extrato Etéreo	2,82	6	0,07	3,14±0,03	2,16
Cinzas	5,29	5	0,13	5,90±0,06	2,23
Bixina	5,78	10	0,13	6,44±0,04	1,96
Carboidratos	63,49				
Total	100,00				

Legenda:

b.u= base úmida; b.s= base seca

O teor de bixina medido nas amostras estudadas neste trabalho apresenta valores acima da média existente na literatura, mas compatível com os valores geralmente encontrados para os tipos cultivados no Estado do Pará, conforme demonstrado na Tabela 2.1.

Na Figura 4.1 são mostradas duas fotos, uma de grãos de urucum adquirida em uma fazenda localizada no município de Nova Timboteua-PA, denominada Comercial e outra de grãos do híbrido desenvolvido pela EMBRAPA e beneficiados no LEPRON-UFPA, onde pode-se observar que os últimos apresentam um aspecto mais uniforme, com uma tonalidade de cor mais intensa quando comparado á amostra comercial.

Amostra
Comercial

Amostra
EMBRAPA



Figura 4.1. Fotos comparativas entre grãos obtidos de amostras comerciais e grãos da EMBRAPA.

4.3 RESULTADOS DAS EXTRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DA MSR

As corridas realizadas de acordo com a matriz de experimentos indicada na Tabela 4.3, apresentam os valores para rendimento em massa corante Rm(%) e em bixina Bi(%), em função das variáveis operacionais de entrada.

Tabela 4.3. Matriz de experimento com base na MSR

Corridas	Variáveis de entrada codificadas			Variáveis de entrada reais (unidade)			Rendimentos	
	X ₁	X ₂	X ₃	Φ(adim)	Cs(%)	t(min)	Rm(%)	Bi(%)
1	-1	-1	-1	5,00	0,50	40	4,53	51,89
2	+1	-1	-1	7,00	0,50	40	5,12	53,83
3	-1	+1	-1	5,00	0,70	40	4,79	56,62
4	+1	+1	-1	7,00	0,70	40	5,88	49,16
5	-1	-1	+1	5,00	0,50	80	4,33	55,53
6	+1	-1	+1	7,00	0,50	80	5,65	54,75
7	-1	+1	+1	5,00	0,70	80	5,02	54,73
8	+1	+1	+1	7,00	0,70	80	5,95	49,93
9	-1,68	0	0	4,32	0,60	60	4,74	56,83
10	+1,68	0	0	7,70	0,60	60	5,91	52,63
11	0	-1,68	0	6,00	0,43	60	4,60	56,40
12	0	+1,68	0	6,00	0,77	60	5,53	52,09
13	0	0	-1,68	6,00	0,60	26	5,65	48,62
14	0	0	+1,68	6,00	0,60	94	5,87	46,77
15	0	0	0	6,00	0,60	60	5,29	56,28
16	0	0	0	6,00	0,60	60	5,18	54,60
17	0	0	0	6,00	0,60	60	5,36	53,91
18	0	0	0	6,00	0,60	60	5,20	52,95
19	0	0	0	6,00	0,60	60	5,18	55,45
20	0	0	0	6,00	0,60	60	5,97	55,62

Legenda:

Φ=Relação solvente/semente; Cs= Concentração do solvente; t= tempo de extração

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA A RESPOSTA Rm(%)

Para a variável de resposta Rm(%), são apresentados os resultados obtidos a partir da matriz de experimentos. Para quais realizou-se análise estatística com auxílio do aplicativo Statística™ 5.0, obtendo-se a estimativa dos efeitos principais e interações binárias, conforme os dados da Tabela 4.4

Tabela 4.4. Efeitos principais e interações observadas na análise de Rm(%)

Interações	Valores Estimados	Erro puro
Grande Média.	5,3723	0,1253
X_1	0,8625	0,1663
X_1^2	-0,1217	0,1621
X_2	0,5230	0,1663
X_2^2	-0,3071	0,1621
X_3	0,1479	0,1663
X_3^2	0,1821	0,1621
X_1X_2	0,0306	0,2172
X_1X_3	0,1420	0,2172
X_2X_3	-0,0056	0,2172

Comparando-se cada efeito com seu respectivo erro puro, verifica-se, em primeira análise, que somente as variáveis individuais X_1 e X_2 e combinação X_2^2 apresentam significância estatística para a resposta, pois numericamente são as únicas maiores que seus respectivos erros, demonstrando dessa maneira que tais efeitos devem ser considerados para avaliação da variável de resposta.

A Figura 4.2 representa o diagrama de Pareto, que é uma representação em gráfico de barras da tabela anterior. Ela demonstra que as variáveis isoladas ou combinadas que exercem influência positiva ou negativa na resposta do rendimento em massa da extração Rm(%), são representadas pelas barras dos efeitos que vão além do limite de rejeição de hipótese nula para uma probabilidade $p=0,05$, representado pela reta indicativa transversal, ou seja, para o caso em estudo, somente as variáveis X_1 e X_2 , cujos efeitos são respectivamente: 5,1852 e 3,1445.

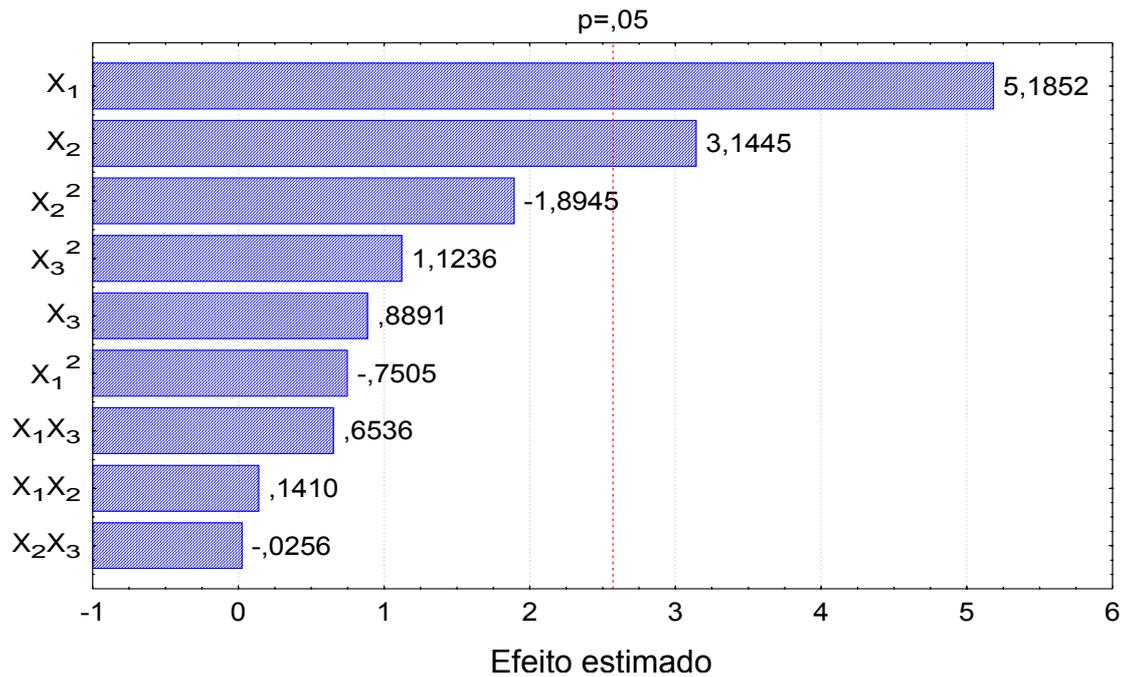


Figura 4.2. Diagrama de Pareto dos efeitos estimados (padronizados) para a resposta $R_m(\%)$

No entanto essa análise não é suficiente para considerar que apenas os efeitos de X_1 e X_2 são significativos, devendo-se portanto recorrer à análise de variância (ANOVA), a qual está representada na Tabela 4.5:

Tabela 4.5. Análise de Variância (ANOVA) para a resposta $R_m(\%)$

Efeitos	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Teste F	Probabilidade (p)
X_1	2,5375	1	2,5375	26,8863	0,0035
X_2	0,9332	1	0,9332	9,8878	0,0255
X_3	0,0746	1	0,0746	0,7904	0,4147
X_1^2	0,0532	1	0,0533	0,5633	0,4867
X_2^2	0,3387	1	0,3387	3,5889	0,1167
X_3^2	0,1191	1	0,1191	1,2624	0,3122
X_1X_2	0,0019	1	0,0019	0,0199	0,8934
X_1X_3	0,0403	1	0,0403	0,4272	0,5422
X_2X_3	0,0001	1	0,0001	0,0007	0,9805
Falta de ajuste	0,3320	5	0,0664	0,7035	0,6455
Erro Puro	0,4719	5	0,0944		

Com base na probabilidade p para o nível de confiança de 95%, confirma-se a influência das variáveis isoladas X_1 e X_2 , porque são os efeitos de menor probabilidade de estarem na região de hipótese nula, ou seja, sem significância estatística para a resposta; fato evidenciado pela ordem de grandeza dos valores numéricos da coluna de probabilidade p . Evidencia-se que somente as variáveis X_1 e X_2 possuem efeitos significativos, sendo que uma mudança dessas variáveis, do nível mais baixo para o nível mais alto acarreta um efeito positivo na variável de resposta rendimento em massa.

Confirmadas as variáveis mais influentes observadas na análise de variância, e com base nos valores dos coeficientes de regressão apresentados na Tabela 4.6, é proposto um modelo estatístico para o rendimento em massa da extração de norbixina, descrito pela Equação 4.1, em função das variáveis codificadas que apresentam significância para o ajuste proposto.

Tabela 4.6. Coeficientes de regressão para os rendimentos em massa

Parâmetros	Coeficientes
Constante	5,3723
X_1	0,4312
X_2	0,2615
X_3	0,0739
X_1^2	-0,0608
X_2^2	-0,1536
X_3^2	0,0911
X_1X_2	0,0153
X_1X_3	0,0710
X_2X_3	-0,0028

$$R_m = 5,37 + 0,43X_1 + 0,26X_2 \quad (4.1)$$

$$X_1 = \frac{\varphi - 6}{1} \quad (4.2)$$

$$X_2 = \frac{C_s - 0,6}{0,1} \quad (4.3)$$

$$X_3 = \frac{t - 60}{20} \quad (4.4)$$

Pela substituição das equações 4.2, e 4.3 na equação 4.1, pode ser obtido o modelo teórico para o rendimento em massa da extração de semente de urucum em percentagem, para as variáveis originais: Relação mássica de semente e solvente (φ) e concentração da solução extratora (C_s).

O coeficiente de determinação (R^2) para o modelo proposto é de 0,8372, considerado muito bom por se tratar de um trabalho com produtos naturais, pois as variáveis inerentes a esse tipo de material são de difícil controle e avaliação. O teste de Fischer (F), conforme mostrado na análise de variância, é outro fator que confirma um bom ajuste ao modelo, visto que o F tabelado a 95% de confiança ($F_{0,05-5,5} = 5,05$) é maior que o calculado ($F_{0,05-5,5} = 0,70$), não havendo portanto evidência de falta de ajuste.

A diferença entre os valores preditos pelo modelo proposto para rendimento em massa, menos os valores obtidos experimentalmente, ou seja, os resíduos, são apresentados na Figura 4.3, onde estão postos em gráfico os resíduos x valores preditos. Observa-se que os pontos estão distribuídos aleatoriamente em torno do zero e seus valores numéricos são baixos situados na faixa de $-0,3$ a $0,6$ o que também demonstra que o modelo é adequado, não havendo inconsistência entre os valores estimados e os obtidos experimentalmente.

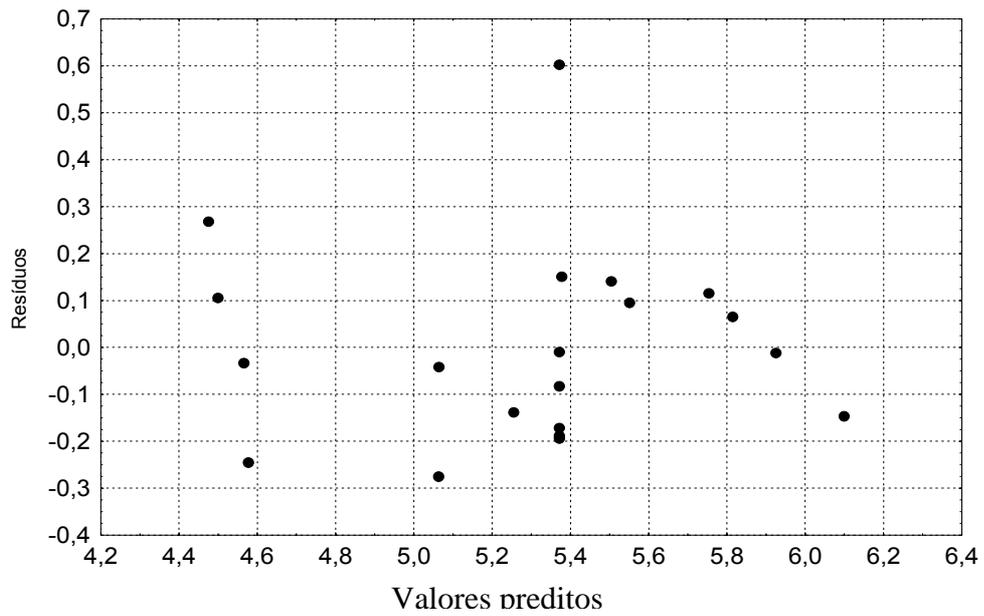


Figura 4.3. Análise de resíduos para a resposta rendimento em massa.

A Figura 4.4 apresenta a superfície de resposta para as variáveis X_1 e X_2 em $X_3=0$, e a Figura 4.5 ilustra as curvas de nível. A análise dessas figuras demonstra que incrementos nos valores de X_1 e X_2 , mantendo-se X_3 no ponto central, resultam em maiores rendimentos em massa total corante.

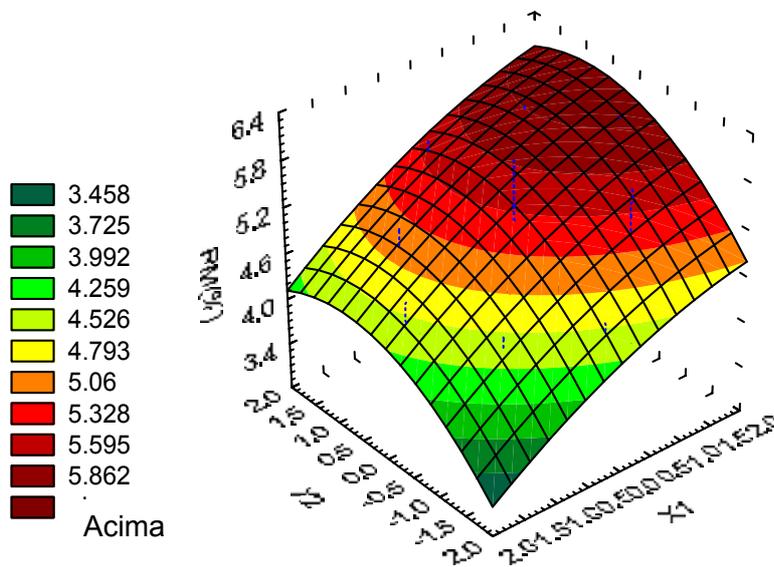


Figura 4.4. Superfície de resposta para as variáveis X_1 e X_2 , mantendo X_3 no ponto central

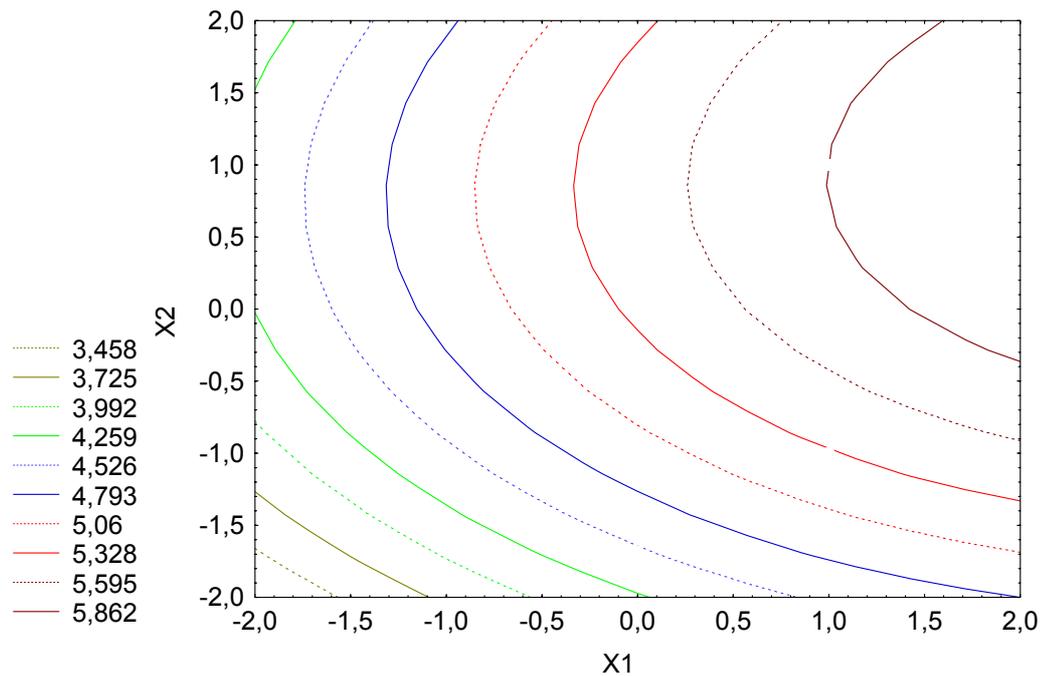


Figura 4.5. Curvas de nível para a resposta rendimento em massa

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA A RESPOSTA Bi (%)

Para a variável de resposta Bi(%) apresentamos os resultados obtidos a partir da matriz de experimentos, adotando-se para essa variável de resposta o mesmo procedimento estatístico adotado para Rm(%). Obtém-se então inicialmente os efeitos principais de interação das variáveis de entrada, conforme dados da Tabela 4.7.

Comparando-se os efeitos com seus respectivos erros padrão, verifica-se em primeira análise que as variáveis individuais X_1 , X_2 e as combinações X_3^2 , X_1X_2 e X_2X_3 apresentam significância estatística para a resposta. Contudo, os efeitos de X_1 e X_2 não podem ser interpretados individualmente, pois os mesmos apresentam efeitos de interação (X_1X_2) significativos.

Tabela 4.7. Efeitos principais e interações observados na análise de Bi(%)

Interações	Valores estimados	Erro Puro
Grande Média	54,7601	0,5008
X_1	-2,6612	0,6649
X_2	-1,8763	0,6649
X_3	0,0487	0,6649
X_1^2	0,4760	0,6480
X_2^2	0,1323	0,6480
X_3^2	-4,5091	0,6480
X_1X_2	-3,3550	0,8683
X_1X_3	-0,0150	0,8683
X_2X_3	-1,4200	0,8683

A Figura 4.6 representa o diagrama de Pareto, o qual demonstra que as variáveis isoladas e combinadas que exercem influência em Bi(%), são: X_1 , X_2 , X_1X_2 e X_3^2 .

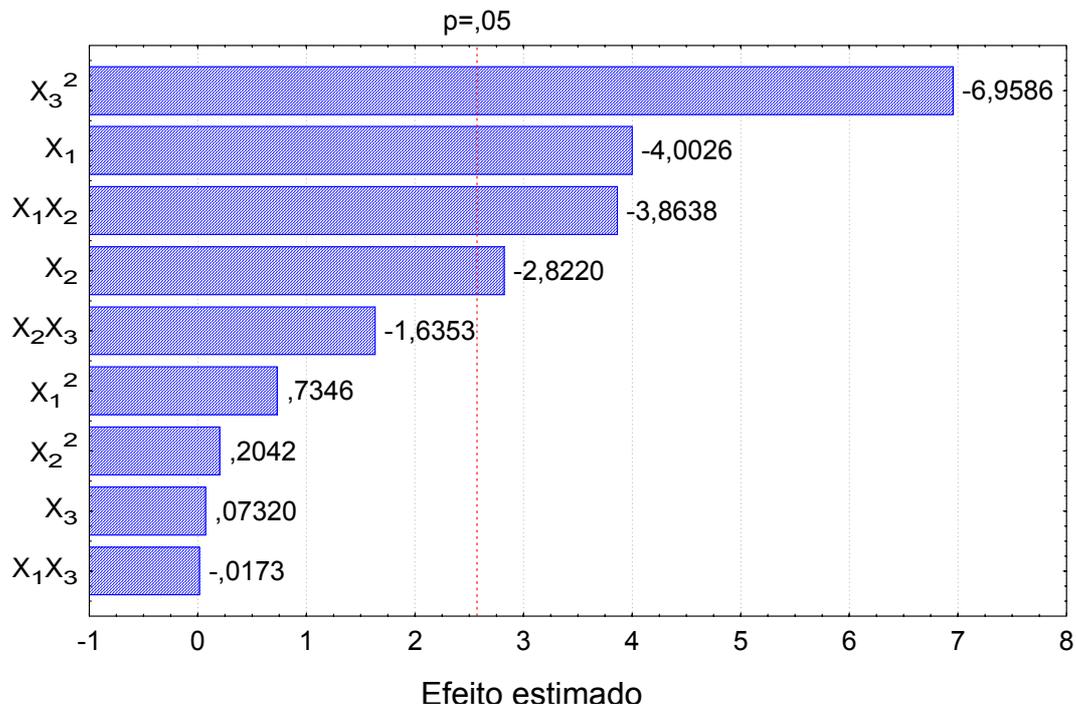


Figura 4.6. Diagrama de Pareto para os efeitos estimados (padronizados) para a resposta Bi(%)

Com base na probabilidade p para o nível de confiança de 95%, confirma-se a influência das variáveis X_1 , X_2 , X_3^2 e X_1X_2 , fato evidenciado pela ordem de grandeza dos valores numéricos da coluna de probabilidade.

Da mesma maneira que em $Rm(\%)$, essa análise não é suficiente para considerar que os efeitos X_1, X_2, X_3^2 e X_1X_2 são efetivamente significativos para a variável de resposta $Bi(\%)$, devendo-se também recorrer à Análise de Variância, representada na Tabela 4.8.

Tabela 4.8. Análise de Variância (ANOVA) para resposta $Bi(\%)$

Efeitos	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Teste F	Probabilidade (p)
X_1	24,1587	1	24,1587	16,0206	0,0103
X_2	12,009	1	12,009	7,9637	0,0370
X_3	0,0081	1	0,0081	0,0054	0,9445
X_1^2	0,8138	1	0,8138	0,5397	0,4956
X_2^2	0,0629	1	0,0629	0,0417	0,8462
X_3^2	73,0193	1	73,0193	48,4221	0,0009
$X_1.X_2$	22,5121	1	22,5121	14,9287	0,0118
$X_1.X_3$	0,0005	1	0,0005	0,0003	0,9869
$X_2.X_3$	4,0328	1	4,0328	2,6743	0,1629
Falta de ajuste	12,9346	5	2,5869	1,7155	0,2840
Erro Puro	7,5399	5	1,5080		

O Coeficiente de determinação (R^2) para o modelo proposto é de 0,8722. O teste de Fischer (F) confirma um bom ajuste ao modelo, visto que o tabelado a 95% de confiança ($F_{0,05-5,5} = 5,05$) é maior que o calculado ($F_{0,05-5,5} = 1,72$), não se confirmando a evidência de falta de ajuste.

Na Tabela 4.9 estão os coeficientes de regressão do modelo estimado para descrever matematicamente a variável $Bi(\%)$.

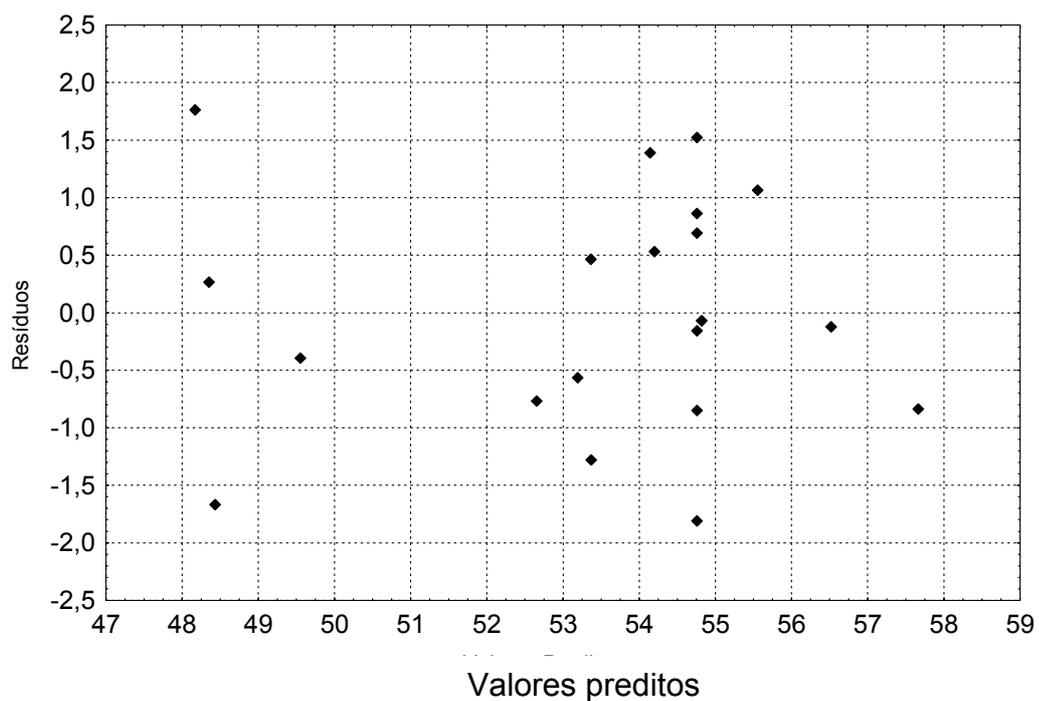
Pela substituição das equações 4.2, 4.3 e 4.4 na equação 4.5, pode ser obtido o modelo teórico para o rendimento em bixina da extração de semente de urucum em termos das variáveis originais.

Tabela 4.9. Coeficientes de regressão para os rendimentos em Bixina

Parâmetros	Coefficientes
Constante	54,7601
X_1	-1,3306
X_2	-0,9381
X_3	0,0243
X_1^2	0,2380
X_2^2	0,0617
X_3^2	-2,2546
X_1X_2	-1,6776
X_1X_3	-0,0075
X_2X_3	-0,7100

$$Bi(\%) = 54,76 - 1,33X_1 - 0,94X_2 - 2,25X_3^2 - 1,68X_1X_2 \quad (4.5)$$

Observa-se na Figura 4.7 que os pontos estão distribuídos aleatoriamente em torno do valor zero, e apontam baixos valores, o que também demonstra que o modelo é adequado

**Figura 4.7.** Análise de resíduos para a resposta rendimento em bixina.

As Figuras 4.8 e 4.9 representam a superfície de resposta e as respectivas curvas de nível para $Bi(\%)$. Pela análise dessas curvas nota-se que existem duas regiões de interesse, nas quais o valor da resposta é máximo, dentro dos limites empregados neste trabalho.

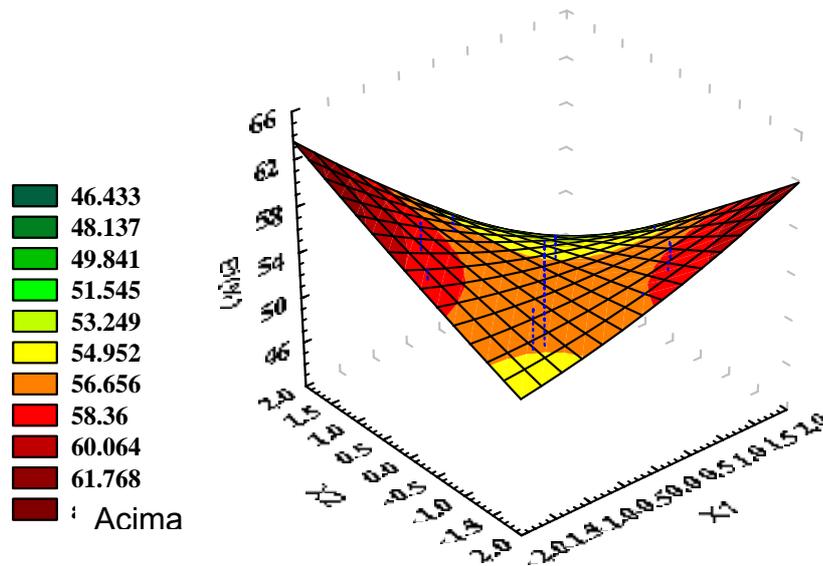


Figura 4.8. Superfície de resposta para a variável de resposta $Bi(\%)$

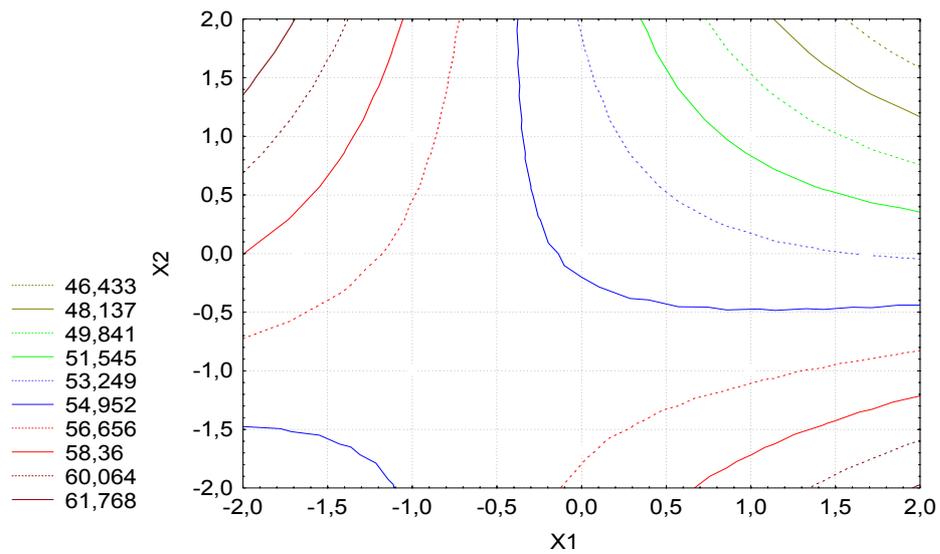


Figura 4.9. Curvas de nível a resposta $Bi(\%)$

As referidas regiões correspondem a pontos de concentração alta de solvente e relação solvente/massa baixo; ou à região de concentração baixa de solvente e relação solvente/massa alta. Este comportamento é característico da superfície de resposta tipo sela (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978). Inversamente, as regiões de concentração baixa e relação de massa solvente baixa, ou concentração de solvente alta e relação massa de solvente alta, são as que menos interessam em se tratando de otimização do processo,

4.6 OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO

4.6.1 Identificação da melhor condição de processo para $R_m(\%)$ versus $B_i(\%)$

A através da metodologia de superfície de resposta discutida anteriormente é possível determinar as condições operacionais em função das variáveis de interesse para o processo e alcançar um valor ótimo para as variáveis de resposta consideradas. Quando se deseja otimizar mais de uma variável de resposta deve-se considerar se em certas situações, o ótimo para uma resposta não inviabiliza técnica ou economicamente o processo, ou não corresponde ao valor ótimo para outras variáveis estudadas.

Ressalte-se que na verdade, não se pode considerar um ponto ótimo ou máximo, e sim uma região em que são consideradas as melhores condições de processo.

A identificação da região ótima para as respostas $R_m(\%)$ e $B_i(\%)$ consideradas neste trabalho, é realizada através da análise do gráfico da Figura 4.10. Este gráfico é resultado da superposição das Figuras 4.5 e 4.9 e mostra as regiões de otimização R01, R02 e R03. Observa-se que não há uma superposição plena da região 02 que representa o rendimento em massa $R_m(\%)$, com as regiões 01 e 03 representativas do rendimento em bixina $B_i(\%)$.

Essas relações foram mostradas anteriormente e confirmam que um incremento no rendimento em massa não é necessariamente acompanhado de um incremento de rendimento em bixina, o que confirma estudos anteriores de que soluções extratoras de KOH mais concentradas podem contribuir para a degradação de norbixato de potássio.

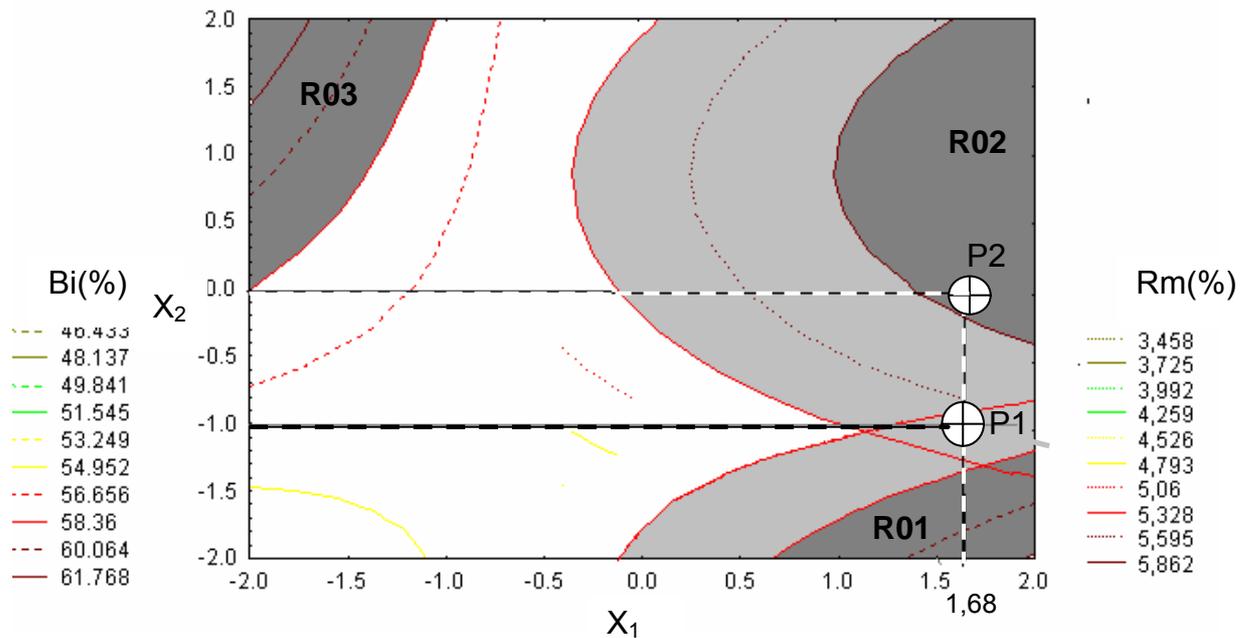


Figura 4.10. Superposição das curvas de nível das regiões de otimização R01 e R03 para $Bi(\%)$, e R02 para $Rm(\%)$.

4.6.2 Seleção das variáveis que representam as condições de otimização

Conforme as condições estabelecidas neste trabalho, destaca-se o ponto P1 ($X_1 = 1,68$ e $X_2 = -1$), que está situado em uma região intermediária a R01 e R02, podendo portanto satisfazer, concomitantemente, as duas condições de otimização de $Rm(\%)$ e $Bi(\%)$. O ponto P2 pode também ser utilizado como alternativa para se conseguir uma ótima condição de rendimento em massa sem maior prejuízo ao rendimento em bixina. A escolha de um ou outro ponto, em condições de processo é decorrente de qual alternativa seria de maior interesse para o processo.

4.7 OTIMIZAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PÓS-EXTRAÇÃO

Foram selecionadas as variáveis de entrada correspondentes aos pontos P1 e P2 para as corridas de otimização, conforme mostrado na Tabela 4.10. Foram executadas novas corridas para a obtenção desses pontos, em triplicata, e os valores médios das variáveis de resposta $Rm(\%)$ e $Bi(\%)$ encontram-se nas Tabelas 4.11 e 4.12, respectivamente. Tal procedimento, denominado aqui de pós-extração,

foi executado com modificações na parte experimental, visando melhorar o rendimento em bixina.

As modificações referem-se principalmente a duas etapas: (1) centrifugação do extrato concentrado, após o processo de sifonação e (2) interrupção da secagem antes da amostra se apresentar no estado sólido, ou seja, ainda apresentar estado físico pastoso, com teor médio de umidade em torno de 80% b.u.

As corridas pós-extração propiciaram um aumento no rendimento em bixina, conforme os dados das Tabelas 4.12. O rendimento em massa praticamente permaneceu inalterado, como pode ser verificado na Tabela 4.11.

Tabela 4.10. Variáveis de entrada, codificadas e reais selecionadas para os procedimentos pós-extração

Variáveis		P1		P2	
Codificada	Real	Codificada	Real	Codificada	Real
X1	φ	+1,68	7,70	+1,68	7,70
X2	Cs	-1,00	0,50 %	0,00	0,60 %
X3	t	0,00	60 min	0,00	60 min

Tabela 4.11. Variável de resposta Rm(%) para os procedimentos pós-extração

Corridas	Rm(%)	Desvio padrão	Coefficiente de Variação
P1	5,39 %	0,39	7,29%
P2	5,89%	0,34	5,81%

Tabela 4.12. Variável de resposta Bi(%) para os procedimentos pós-extração

Corridas	Bi(%)	Desvio Padrão	Coefficiente de variação
P1	69,69%	0,10	0,14%
P2	64,47%	0,78	1,21%

Os valores de Bi(%) para as corridas P1 e P2 foram significativamente maiores do que o melhor valor encontrado para a variável de resposta Bi(%) (Bi09=56,83%) obtida a partir do planejamento experimental da MSR, com incremento de 22,62% de BiP1 em relação a Bi09. conforme mostrado na Tabela 4.13.

Tabela 4.13. Comparativo dos valores das variáveis de resposta BiP1 e BiP2 em relação a Bi 09 (melhor resultado da MSR)

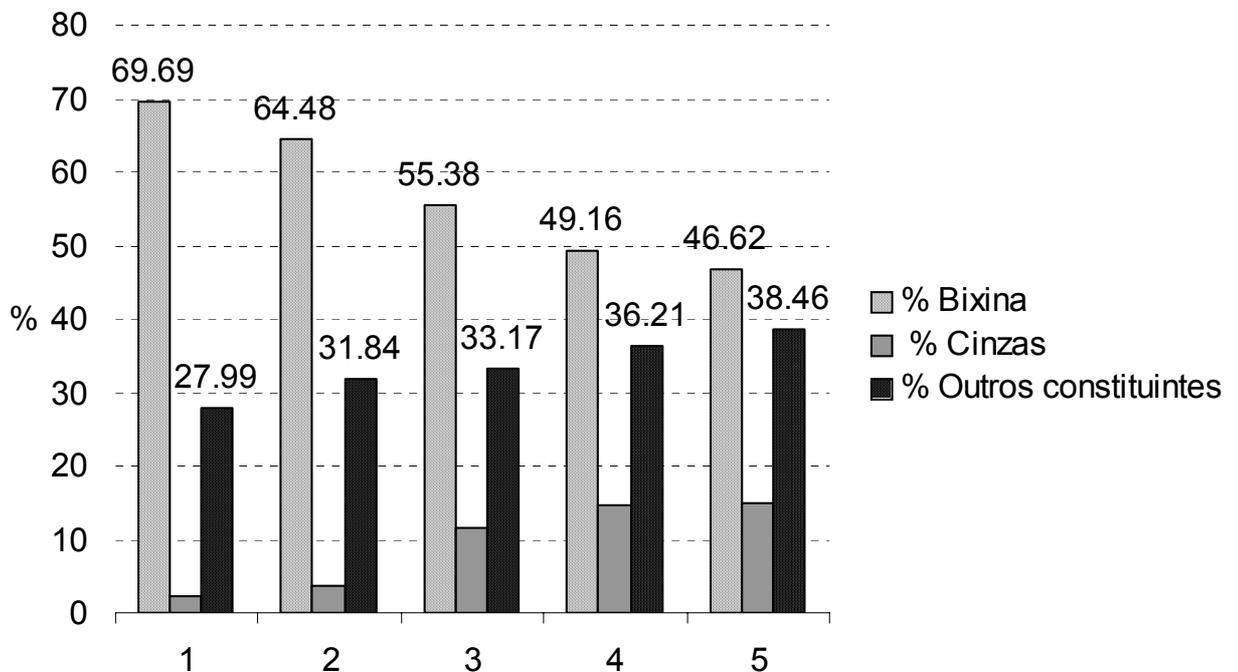
Corridas	P1	P2	Bi09
Valores Bi(%)	69,69%	64,47%	56,83%
Incremento %	22,63%	13,44%	-

4.8 EFEITO DO TEOR DE CINZAS NA VARIÁVEL DE RESPOSTA BI(%)

Através da análise do conteúdo percentual de cinzas, contido na massa corante produto das corridas conforme a MSR, e nas corridas de pós-extração, procedeu-se a análise da variável de resposta Bi(%), dessa relação com a massa das cinzas presente no material e com outros constituintes. Os resultados são mostrados na Tabela 4.14, e serviram de base para a elaboração gráfica da Figura 4.11, a qual evidencia a relação inversa entre percentual de bixina com percentual de cinzas e outros constituintes presentes nas amostras analisadas, e a relação direta entre o percentual de cinzas e outros produtos dessas mesmas amostras, dentro dos parâmetros operacionais deste trabalho.

Tabela 4.14. Percentuais de Bixina, cinzas e outros produtos contidos em materiais de corridas conforme MSR e de procedimentos pós-extração

Colunas	Origem	Bi(%)	% Cinzas	(%)Outros Produtos	Total
01	P1	69,69	2,32	27,99	100,00
02	P2	64,48	3,68	31,84	100,00
03	Corrida 20	55,38	11,45	33,17	100,00
05	Corrida 04	49,16	14,63	36,21	100,00
06	Corrida 13	46,62	14,92	38,46	100,00



Colunas: 1=P1; 2=P2; 3=Corrida 20; 4=Corrida 04; 5=Corrida 13

Figura 4.11. Demonstrativo da relação entre Bi%, percentual de cinzas e percentual de outros constituintes presentes em produtos obtidos

Em análise comparativa com a literatura, observa-se que esses resultados evidenciam que a concentração de íons K^+ presentes nos extratos influencia a estabilidade da bixina nos produtos resultantes de extração com KOH.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1 CONCLUSÕES

O equipamento foi capaz de propiciar resultados com boa reprodutibilidade, gerando dados experimentais seguros para a análise estatística dos efeitos das variáveis operacionais de entrada nas variáveis de resposta.

O rendimento em massa é influenciado positivamente pela concentração de KOH e pela relação entre volume de solvente e massa de sementes e pode ser descrito matematicamente por um modelo linear

O rendimento em bixina é influenciado pela concentração de KOH, pela relação entre volume de solvente e massa de sementes, pela combinação desses dois fatores e pela variável tempo de extração ao quadrado. Esta resposta pode ser descrita adequadamente por meio de um modelo polinomial.

A região ótima para o processo, a qual propicia os melhores rendimentos combinados em massa e bixina, corresponde às condições de entrada: relação entre volume de solvente e massa de sementes igual a 7,7 e concentração de KOH igual a 0,5%.

As operações de centrifugação do extrato concentrado e de secagem em um tempo inferior a 36 horas, resultam em um produto com maior teor em bixina.

Os grãos de urucum estudados apresentaram um alto teor inicial de bixina, (acima de 6%), podendo ser classificadas como do tipo 1.

A concentração de íons K^+ presentes nos extratos influencia negativamente a estabilidade da bixina nos produtos resultantes de extração com KOH.

5.2 SUGESTÕES

Para dar continuidade ao presente trabalho, sugere-se que:

Desenvolva-se um protótipo com maior capacidade volumétrica e versatilidade com respeito à inversão de fluxo de solvente, após estudos de proporcionalidade geométrica das dimensões do aparelho (*scale up*), para execução de experimentos em escala piloto.

Execute-se monitoramento microbiológico de todo o processo de extração e secagem da massa corante.

Ampliem-se os níveis das variáveis de entrada, visando estreitar a região de otimização de processo

Incorporem-se outras variáveis de entrada nos experimentos, tais como: temperatura de extração, vazão do solvente e teor de umidade inicial das sementes.

Realizem-se estudos comparativos entre cultivares com diferentes teores em bixina.

Realizem-se novos estudos sobre a estabilidade da norbixina em função da concentração de extrato e presença de cinzas no processo de secagem.

Realizem-se os estudos anteriores, no que for aplicável, à extração de bixina com solventes orgânicos.

Realizem-se estudos semelhantes, no que for aplicável, à extração de outros corantes naturais.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E.C. ; PINHEIRO, A.L. Avaliação preliminar de poda drástica realizada em dois parentais de urucuzeiros (*Bixa orellana* L.) e seus descendentes em Viçosa – Minas Gerais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**. v.2, n.2, p. 25-30, 1996.

ALVES, R.W. **Extração de Corantes de Urucum por Processos Adsorptivos Utilizando Argilas Comerciais e Colloidal Gas Aphrons**. 2005,158 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005. Disponível em <<http://notes.ufsc.br/aplic/enqteses>>. Acesso em: 20.01.2006

ANGELLUCI, E. ; ARIMA, H. K.; KUMAGAI, E. A. Urucu I – dados preliminares sobre a composição química. **Coletânea do ITAL**, Campinas, v.11, p.89-96,1980.

ANGELUCCI, E. Corantes Naturais *versus* Corantes Artificiais: Vantagens e Desvantagens. In: **Seminário de Corantes Naturais para Alimentos (resumos)**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos- ITAL, p. 07-10, 1989.

AOAC-Association of Official Analytical Chemists (Washington, Estados Unidos). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16 ed. Washington, v.2,1997.

BARRETO, D.W.; JAEGER, L.M.; MASSARANI, G. Produção de concentrado de Bixina. In: XVII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados (XVII ENEMP), 1989, São Carlos. **Anais**. São Carlos: UFSCar, p. 175-185, 1989.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I.S.; BRUNS, R.E. **COMO FAZER EXPERIMENTOS**: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria. Campinas. 2ª edição. Editora Unicamp, 2003. Campinas, 2003. 401 p

BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER J.S. **Statistics for experimenters**: an introduction to design, data analyses and model buiding. New York: Wiley, 1978. 653p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n 1.004 de 11 de dezembro de 1988. **Diário Oficial**. Brasília, DF. de 22 de março de 1999.

CARVALHO, P.R.N. (Coord.). Extração do Corante de Urucum. In: **Corantes Naturais para Alimentos**. Campinas: ITAL, 1989. p. 73-77.

CARVALHO, P.R.N. Carotenóides. In: II Seminário de Corantes Naturais para Alimentos e I Simpósio Internacional de Urucum, 1991, Campinas. **Anais**. Campinas: ITAL, 1991. p.50-54.

CARVALHO, P.R.N.; CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B. Estudo da Composição de Sementes, cachopas, folhas e galhos do urucum (*Bixa orellana* L.) In: II Seminário de Corantes Naturais para Alimentos e I Simpósio Internacional de Urucum, 1991, Campinas: **Anais**. ITAL, 1991, p. 317.

CARVALHO, O.C. Avaliação dos teores de bixina do urucum sob três condições de secagem em camada fina. In: SIMBRAU - Simpósio Brasileiro do Urucum. João Pessoa, 2006. **Anais**. Palestras. Disponível em CD Room. João Pessoa, 2006.

CASTRO, M.S.; FARIA, L.J.G. Secagem de urucum em leito fixo: Influência das Variáveis Operacionais no teor de bixina. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.1, n.1, p.137-144, 1992.

CHAO, R.R.; MULVANEY, S.J.; SANSON, D.R.; HSIEH, F. TEMPESTA, M. S.Supercritical CO₂ Extraction of Annatto (*Bixa orellana*) Pigments and Some Characteristics of the Colors Extract. **Journal of Food Science**, v 56, n.1, p. 80-83, 1991.

CORANTES, tendência a favor dos naturais. **Revista Aditivos e Ingredientes**. n.11, Nov./Dez., p.237, 2000.

COSTA, C.M.L.; FARIA, L.J.G. Otimização do processo de extração química de óleos vegetais utilizando metodologia de superfícies de resposta. In: **Tópicos Especiais em Tecnologia de Produtos Naturais**. UFPA, NUMA, POEMA, p. 220-241. 1998.

FALESI, I. C.; KATO, O.R. **A cultura do urucum no Norte do Brasil**. Belém: EMBRAPA/CPATU, 1992. p.65.

FAO/WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives **Sixty-first meeting, Roma**: Junho, 2003. Disponível em <www.who.int/pcs/jecfa/jecfa.htm>. Acesso em: 18 de junho de 2005.

FARIA, L.J.G.; COSTA, C.M.L. (Coord.). Plantas Corantes da Amazônia. In: **Tópicos especiais em tecnologia de produtos naturais**. Belém: UFPA, NUMA, POEMA, 1998. p. 41-55.

FARIA, L.J.G. **Análise Experimental do Processo de Secagem de Urucum em Leito Fixo**. 1998. 274 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1998.

FERREIRA, M.F.P. **Estudo da estabilidade de extratos de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) em processos de tingimento de fibras vegetais**. 1999. 53 f. Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Pará. Belém, 1999.

FERREIRA, M.F.P. **Contribuição ao estudo da fotodegradação de corantes de urucum (*Bixa orellana* L.) no processo de tingimento de fibras vegetais.** 2001. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Pará. Belém, 2001.

FERREIRA, W.A. ; FALESI, I.C. Teores de nutrientes e matéria seca na parte aérea e na raiz e percentagem de bixina de três tipos de urucuzeiro. In: I Reunião Técnica – Científica sobre melhoramento Genético do urucuzeiro. 1991, Belém. **Anais.**Belém: CPATU/EMBRAPA, SBCN, 1991.

FRANCO, C.F.O.; SILVA, F.C.P.; CASÉ FILHO, J.; BARREIRO NETO, M.; SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H.; FONTINÉLLI, I.S.C. 2002. **Urucuzeiro: agronegócio de corantes naturais.** João Pessoa: EMEPA, SAIA, 2002. 120 p.

FRANCO, C.F. **Mercado de Urucum (*Bixa orellana* L.) no Brasil.** EMEPA – Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S/A. 2004. Disponível em: <http://www.emepa.org.br/inform/urucum_mercado.htm>. Acesso em: 2 de abril. 2005.

FURTADO, M. Corantes – Indústria de Alimentos Adere aos Naturais. **Revista Química e Derivados.** Novembro, 2003. p.15-19. Disponível em: <<http://www.Revista Química e Derivados - EDITORA QD1.htm>>. Acesso em : 21 de setembro 2005.

GLÓRIA, M.B.A. Potencial de utilização do urucum. In: SIMBRAU-Simpósio Brasileiro do Urucum. 2006, João Pessoa. **Anais.** Palestras. Disponível em CD Room. João Pessoa, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal e Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.** 2005. disponível em: <<http://www.IBGE/estatísticas>>. Acesso em 29 de março de 2006.

LUEDY M. Pesquisa do urucum no tingimento das fibras papeleiras. In: SIMBRAU-Simpósio Brasileiro do Urucum. João Pessoa. 2006. **Anais.** Palestras. Disponível em CD Room. João Pessoa, 2006.

MARTINS, C.M.; SOUZA, F.R.S. ; OLIVEIRA V.P.; NAZARÉ, R.F.R. Ensaio Nacional de Tipos Superiores de Urucuzeiro no Ecossistema Terra Firme no Estado do Pará. **Revista Brasileira de Corantes Naturais.** v2, n2, 1996. p. 7-13.

MASCARENHAS, J.M.O. ; STRINGHETA, P. C.; LARA, J. E. O Perfil das Indústrias Produtoras de Corantes. **Revista Brasileira de Corantes Naturais.** v.3, p.1-9, 1999.

MENESES, J.F.; PASSOS, M.L. Determinação dos parâmetros de secagem de sementes de urucum. In: 1º Congresso Brasileiro de Engenharia Química: Iniciação Científica. 1995, São Carlos. **Anais.** São Carlos: UFSCar, 1995.

MORAES, E.C.; BANZATTO, D.A.; COSTA, J.P.C.; ARAÚJO, J.A.C.; RODRIGUES, V.L.F.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; Estudo das Estruturas Lineares em Mudanças de Urucuzeiros (*Bixa orellana* L.), Protegidas por Plásticos, sob Efeito de Dotações Hídricas Suplementares. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**. v.2, n.2, p. 31-43, 1996.

NAKAMURA, M. Application of annatto colors. In: II Seminário de Corantes Naturais para Alimentos e I Simpósio Internacional de Urucum. 1991, Campinas. **Anais**. Campinas: ITAL, p.217-224. 1991.

NAZÁRIO, G. Avaliação Toxicológica de Corantes Naturais. In: **Seminário Corantes Naturais para Alimentos (resumos)**. ITAL. Campinas, 1989. p. 01-06.

OLIVEIRA, A.F.A. Aplicação de Corantes Naturais em Alimentos In: **Seminário Corantes Naturais para Alimentos (resumos)**. ITAL Instituto Tecnológico de Alimentos. São Paulo, Campinas, 1989. p.16-19.

OLIVEIRA, T.T. ; NAGEM, T.J.; ALMEIDA, E.C. Determinação dos constituintes químicos de dois cultivares do urucum - (*Bixa orellana* L.). In: **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.2, 1999.

OLIVEIRA, J.S. **Caracterização, Extração e Purificação por Cromatografia de Compostos de Urucum (*Bixa orellana* L.)**. 2005. 215 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. Disponível em:<<http://notes.ufsc.br/aplic/enqteses>>. Acesso em 20.01.2006.

PENNA Jr. W.; FARIA, L.J.G. Extração de corantes de urucum (*Bixa orellana* L.) com solvente orgânico. In:III Encontro Científico e de Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Amazônia e Centro-Oeste. 1995, Belém. **Anais**. Belém: UFPA, 1995.

PIMENTEL, F.A. **Avaliação de métodos de obtenção e da estabilidade de pigmentos de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)** 1995. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1995.

PINHEIRO, N.F.L.L.; SILVA, G.F.; ALSINA, O.L.S. Secagem de urucum em leito de jorro. In: XVIII Encontro sobre Escoamento em Meios Porosos. 1990, Nova Friburgo. **Anais**. Nova Friburgo: UFRJ, 1990. p.389-399.

POLTRONIERI, M.C.; BOTELHO, S.M. Situação atual e potencialidades da cultura do urucum (*Bixa orellana* L.) na Região Norte do Brasil. In: SIMBRAU - Simpósio Brasileiro do Urucum. João Pessoa. 2006. **Anais**. Palestras. Disponível em CD Room. João Pessoa, 2006.

PÓVOA, M.E.B. Extração do corante de urucum (*Bixa orellana* L.) com diversos solventes . **Revista Brasileira de Corantes Naturais**. v.1, n.1, 1992. p.153-157.

PÓVOA, M.E.B. Estabilidade de Corantes de Urucum (*Bixa orellana* L.). **Revista Brasileira de Corantes Naturais**. v.2, n.2, 1996. p.136-145.

PRENTICE-HERNANDEZ, C.; RUSIG, O. Extrato de urucum (*Bixa orellana* L.) obtido utilizando álcool etílico como solvente. **Arq. Biol. Tecnol.** v.35, n.1, p. 63-64, março, 1992.

PRENTICE-HERNANDEZ, C. **Obtenção e Avaliação de bixina a partir de extrato de urucum (*Bixa orellana* L.)**.1994.135 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1994.

PRENTICE-HERNANDEZ, C.; RUSIG, O. Efeito da luz na estabilidade de um extrato microencapsulado obtido a partir do urucum (*Bixa orellana* L.). 1999: **Brazilian Journal of Food and Technology**, 1999. p.185-189.

PRESTON, H.D.; RICKARD, M.D. Extration an Chemistry of Annato. **Food Chemistry**, Great Britain, v 5, p. 47-56, 1980.

SÃO JOSÉ, A.R. REBOUÇAS, T.N.H.; MORAIS, O.M.; ATAÍDE, E.M. Coleta y Conservacion de Germoplasma de Achiote (*Bixa orellana* L.) em el Estado de Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v3, 1999.

SÃO JOSÉ, A.R.; PIRES, M.M.P.; BONFIM, M.M.; REBOUÇAS, T.N.H.; SANTANA, K. Sustentabilidade do Agronegócio de Corantes Naturais de Urucum (*Bixa orellana* L.) no Brasil. In: SIMBRAU - Simpósio Brasileiro do Urucum. 2006, João Pessoa. **Anais**. Palestras. Disponível em CD Room. João Pessoa, 2006.

SILVA, G.F. **Processamento de Urucum em Leito de Jorro**. 1991. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal da Paraíba. Campina Grande,1991.

TAKAHASHI, M.Y. (Coord.). Extratos de urucum. In: Monografia de Corantes Naturais para fins alimentícios: **padrões de identidade e qualidade**. 2 ed., São Paulo, 1987. p.22-29.

TAKEDA, M.E.S.; COSTA, C.M.L.; FARIA, L.J.G. Planejamento e análise estatística de experimentos aplicados a produtos naturais. In: **Tópicos Especiais em Tecnologia de Produtos Naturais**. Belém: UFPA, NUMA, POEMA, 1998. p. 205-219.

URUCUM, mais que um simples corante. **Aditivos e Ingredientes**. n.14, Maio/Junho, 2001. p. 26-34.

URUCUM. **Revista de Cosméticos e Tecnologia**: Edição Temática Especial, p. 52. março 2006.

YABIKU, H. I.; TAKAHASHI, M.Y. Avaliação dos métodos analíticos para determinação de bixina em grãos de urucum e suas correlações. In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS, 2: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE URUCUM. Campinas, 1991. **Anais** . Campinas, ITAL, 1991. p. 275-279.

APÊNDICES

APÊNDICE A1: Memória de cálculo para os valores de Rm(%)

Tabela A1: Valores de Massa de semente, Massa extraída e Rm(%) para os experimentos

Experimentos	Massa Semente (g)	Massa extraída(g)	Rm(%)
01	179,6	8,14	4,53
02	179,6	9,19	5,12
03	179,6	8,60	4,79
04	179,6	10,56	5,88
05	179,6	7,78	4,33
06	179,6	10,14	5,65
07	179,6	9,02	5,02
08	179,6	10,69	5,95
09	179,6	8,52	4,74
10	179,6	10,62	5,91
11	179,6	8,27	4,60
12	179,6	9,93	5,53
13	179,6	10,14	5,65
14	179,6	10,54	5,87
15	179,6	9,50	5,29
16	179,6	9,31	5,18
17	179,6	9,63	5,36
18	179,6	9,34	5,20
19	179,6	9,30	5,18
20	179,6	10,73	5,97

Cálculo para Rm(%):

O rendimento em massa é em base seca de sementes, ou seja, 200g de sementes menos a umidade média (10,2%), cujo resultado é igual ao valor 179,6g, na coluna “massa semente” ($200 \times 0,898 = 179,9\text{g}$). Divide-se portanto, o valor da massa extraída por 179,9, e o resultado multiplica-se por 100, para obter-se o resultado em Rm(%)

APÊNDICE A2: Memória de cálculo para os valores de Bi(%)

Tabela A2: Valores de massa úmida, massa seca, absorvância, fator de multiplicação e Bi(%) para os experimentos

Experimentos	Massa Úmida (g)	Massa Seca (g)	*Absorbância	Fator	Bi(%)
01	2,0256	1,8368	0,496	173,20	46,77
02	2,1075	1,9082	0,522	173,20	47,38
03	2,0556	1,8917	0,531	173,20	48,62
04	2,2211	2,1059	0,631	173,20	51,89
05	2,0116	1,8597	0,528	173,20	49,16
06	2,0169	1,8792	0,565	173,20	52,09
07	2,0078	1,9205	0,605	173,20	54,60
08	2,0073	1,9089	0,594	173,20	53,91
09	2,0123	1,9201	0,587	173,20	52,95
10	2,0086	1,8783	0,584	173,20	53,83
11	2,0058	1,7866	0,565	173,20	54,73
12	2,0085	1,7815	0,514	173,20	49,93
13	2,0007	1,7977	0,584	173,20	56,28
14	2,0012	1,8016	0,591	173,20	56,83
15	2,0003	1,7711	0,538	173,20	52,63
16	2,0003	1,8491	0,602	173,20	56,40
17	2,0196	1,8280	0,585	173,20	55,45
18	1,9928	1,8061	0,590	173,20	56,62
19	2,0442	1,8176	0,575	173,20	54,75
20	2,0183	1,8351	0,588	173,20	55,53

*Valor médio da absorvância lida em 5 cubetas.

Para determinar os valores descritos na coluna “massa seca”, foi considerada a umidade final de massa extraída, de cada uma das corridas. Ou seja, para cada corrida, determinou-se o teor de umidade de 1g de amostra, e o resultado foi aplicado aos valores da coluna “massa úmida”. Utilizando a partir daí o mesmo raciocínio para o cálculo de Rm(%).

DETALHES DO CÁLCULO DE Bi(%)

O fator 173,20 é a constante aplicada ao procedimento do método KOH, considerando as diluições, os fatores 1,037 e 1,1601, e o coeficiente de extinção= 3473 (Material e Métodos, item: 3.1.4 Métodos de análise de bixina)

Exemplo:

Verifica-se no experimento 01 que o valor médio da absorbância é 0,496, e a massa seca é 1, 8368g.

A fórmula geral é:

$$Bi(\%) = \frac{AVf_d \times 1,037 \times 1,1601}{mE}$$

A= Absorbância

V= Volume da primeira diluição:1000mL

f_d= Fator da segunda diluição, considerando 1000mL/2mL: 500

m= massa corante seca, em gramas

E= Coeficiente específico de extinção: 3473

1.037 = Fator de transformação de norbixina para bixina.

1,1601= Fator de transformação do método KOH para o método clorofórmio.

Exemplo para o experimento 01:

1. O valor médio da absorbância é 0,496 e a massa seca é 1,8368 g.
2. Operando-se os valores constantes, para todos os experimentos (A; V; f_d; E, 1,037 e 1,1601) obtém-se o valor 173,20.
3. Multiplica-se 173,2 por 0,496 e divide-se o resultado por 1,8368, obtendo-se 46,77 que é o valor de Ri01.