

## I - AVALIAÇÃO DOS TEORES DE CURCUMINA EM DIFERENTES ACESSOS DE CÚRCUMA (*CURCUMA LONGA*, L.). II – EXTRAÇÃO DE CURCUMINA

RAISA NOBRE LEAL OLIVA<sup>1</sup>; MARTA G. DA SILVA<sup>2</sup>; FABRÍCIO WESLEY DA  
ROCHA<sup>3</sup>; JOAQUIM A. DE AZEVEDO FILHO<sup>4</sup>; JOSÉ B. PINHEIRO<sup>5</sup>; MARIO S.  
SIGRIST<sup>5</sup>; MARIA I. ZUCCHI<sup>6</sup>; PAULO R. N. CARVALHO<sup>7</sup>

Nº11209

### RESUMO

Esse estudo buscou estabelecer e validar uma metodologia analítica confiável para a análise de pigmentos em cúrcuma (expresso como curcumina), determinar o teor de curcumina e óleo resina em amostras provenientes da coleção de germoplasma mantida pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, plantadas em dois locais diferentes (Piracicaba e Monte Alegre – SP) e estudar um processo de obtenção da curcumina com pureza superior a 90%. Os resultados conduziram a uma metodologia robusta, com boa sensibilidade e precisão e com uma incerteza expandida ( $k=2$ ; 95%) inferior a 5%. As amostras analisadas indicaram uma contribuição significativa nas condições de cultivo sobre os teores de curcumina dos acessos estudados. Os estudos para a obtenção de curcumina indicou um efeito significativo das variáveis temperatura de extração e tamanho das partículas na extração do óleo resina, e a concentração do óleo resina, no processo de cristalização. O rendimento do processo estabelecido foi de 65% em curcumina.

### INTRODUÇÃO

A cúrcuma (*Curcuma longa* L.) é uma planta da família da Zingiberaceae, cuja origem remonta do sul da Índia e que foi introduzida no Brasil na década de 80 (ALMEIDA, 2006). Os pigmentos que fornecem cor à cúrcuma pertencem à classe dos diferolulimetano e são representados principalmente pela curcumina [1,7 - bis- (4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadiena-3,5-diona], cuja concentração pode variar de 1,5 a 7,1% (GOVINDARAJAN, 1980). PEREIRA (1998) cita uma concentração média de curcumina de 2,5%.

As atividades biológicas da cúrcuma foi objeto de uma revisão conduzida por ARAUJO & LEON (2001). Nela os autores citam estudos onde são relatadas

1. Bolsista CNPq: Graduando em Engenharia Química - UNICAMP. ✉ [mobreleal@gmail.com](mailto:mobreleal@gmail.com)

2. Colaboradora: Pesquisadora, Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas - SP.

3. Colaborador: Bolsista FAPESP

4. Colaborador: APTA – Polo Leste Paulista – Monte Alegre – SP.

5. Colaborador: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba – SP.

6. Colaborador: Instituto Agrônomo – Campinas – SP

7. Orientador: Pesquisador, Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas - SP. ✉ [carvalho@ital.sp.gov.br](mailto:carvalho@ital.sp.gov.br)

atividades antiinflamatórias, anti-HIV, bactericida, antiparasitária, antipasmódica, inibidor da carcinogênese e do crescimento do câncer.

O Brasil, apesar de ser um grande produtor de cúrcuma, ainda apresenta uma produtividade muito inferior aos principais produtores mundiais, chegando a pouco mais de 50% da produtividade da Índia. Isso indica um grande potencial de melhoria e tornam necessários estudos sobre os fatores que influenciam sua produtividade e a qualidade. A cúrcuma apresenta potencial para a substituição da tartrazina, um dos corantes artificiais mais usados no Brasil pelas indústrias de alimentos, mas que tem seu uso questionado por problemas de alergia que pode causar a consumidores sensíveis a esse aditivo. Contudo, a dificuldade da oferta do corante de cúrcuma puro (curcumina) tem restringido seu uso às formas de rizomas secos e moídos e ao óleo essencial. Esses produtos possuem o aroma e odor característico da cúrcuma, dificultando o emprego em produtos onde esses aspectos são indesejáveis. Além disso, as contínuas descobertas das propriedades funcionais da curcumina reforçam a necessidade de ofertar ao mercado um produto puro para utilização em ensaios clínicos.

O presente estudo buscou: estabelecer e validar uma metodologia analítica para uso na determinação de curcumina em rizomas de cúrcuma e no estudo do processo de produção do corante; avaliar o teor de curcumina e óleo resina nos acessos de cúrcuma do banco de germoplasma do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), plantadas em duas localidades diferentes (Monte Alegre do Sul e Piracicaba - SP) e estabelecer de uma tecnologia de produção da curcumina com pureza superior a 90% para utilização em estudos clínicos e como corante de alimentos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **- Metodologia analítica**

O método analítico baseou-se na NBR 13624 (LARA, 1996) que tem como princípio a extração da curcumina com etanol, diluição e leitura espectrofotométrica. O método foi validado quanto à especificidade ou seletividade, faixa de trabalho (linearidade), sensibilidade (limite de detecção e de quantificação), exatidão, precisão (repetitividade, reprodutibilidade) e robustez.

- **Matéria-prima**

A matéria-prima utilizada no projeto foi proveniente do estudo de SIGRIST (2009), onde foram caracterizadas as diversidades genéticas e agromorfológicas. Os acessos de cúrcuma do banco de germoplasma do Departamento de Genética da ESALQ foram plantadas em dois locais do estado de São Paulo, nos municípios de Piracicaba e de Monte Alegre do Sul. O plantio de Monte Alegre do Sul foi iniciado em 29/11/2007 e o de Piracicaba em 04/12/2007. A colheita foi realizada na última quinzena de julho de 2008, após a senescência das folhas. Os rizomas da cúrcuma, caracterizados como dedos médios e grandes (entre 3 e 5 cm), foram cortados de forma transversal e secos em estufa com circulação de ar forçada. Uma parte da amostra foi encaminhada para o Laboratório de Análise de Pigmentos do Centro de Química de Alimentos do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), onde foram armazenadas em local seco e ao abrigo da luz.

- **Extração da curcumina**

Foi conduzido um planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}$ , buscando avaliar a influência dos fatores: temperatura de extração, pureza do solvente, proporção de solvente e tamanho das partículas, no rendimento da extração de óleo resina dos rizomas secos de cúrcuma. Para o estudo da cristalização da curcumina buscou-se avaliar a influência de fatores como a concentração do óleo resina, a temperatura de evaporação do etanol utilizado no processo de extração, a temperatura de cristalização e o tempo de armazenamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

- **Métodologia analítica:**

**Linearidade:** a equação resultante da regressão linear ofereceu a seguinte equação:  $y = 0,1615x - 0,0146$  com um coeficiente de correlação  $r = 0,9996$ , indicando que a correlação é significativa (95%). **Sensibilidade:** os limites de detecção e de quantificação foram, respectivamente, 7,93 e 14,10 mg de curcumina por 100 g de cúrcuma. **Precisão:** o método apresentou um coeficiente de variação de 2%, inferior ao obtido pela equação de Horwitz ( $CV = 5\%$ ) (HORVITZ, 1982) indicando uma boa precisão do processo analítico. **Robustez:** os resultados do planejamento fatorial utilizado para a análise da robustez indicou que o método é robusto e que pequenas alterações não afetam o resultado analítico. O cálculo da incerteza do resultado analítico indicou um valor de 2,34% para a incerteza combinada, o que corresponde a

uma incerteza expandida de 0,11 g de curcumina por 100g de cúrcuma ( $k=2$ ; 95%), para uma concentração de 2,28 g/100g.

- **Análises da Matéria Prima**

A análise de variância dos resultados apresentados na Tabela 1, agrupados por local de cultivo, indicou que existe diferença significativa entre as amostras provenientes dos dois locais do estudo. Quando a comparação é feita entre os acessos, observa-se que os resultados de curcumina das amostras provenientes de Monte Alegre do Sul foram sistematicamente superiores aos observados nas amostras de Piracicaba. Enquanto todas as amostras de Monte Alegre do Sul apresentaram teores de curcumina (em base seca) variando de um mínimo de 4,04 g/100 a um máximo de 4,96 g/100g, nenhuma das amostras de Piracicaba chegou a esse valor, variando (em base seca) de 0,22 g/100g a 3,95 g/100g.

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises de óleo resina (extrato etanólico). A análise de variância dos resultados agrupados por local de cultivo indicou que existe diferença significativa ( $P = 5\%$ ) entre as concentrações de óleo resina das amostras. A comparação entre os acessos mostra que o teor de óleo resina das amostras provenientes de Monte Alegre do Sul foram superiores aos observados nas amostras de Piracicaba em 27 dos 32 acessos plantados em ambas as localidades. Os teores de óleo resina das amostras de Monte Alegre do Sul variaram (em base seca) de um mínimo de 7,61 g/100 a um máximo de 20,71 g/100g, enquanto as amostras de Piracicaba variando (em base seca) de 7,16 g/100g a 14,29 g/100g. A amostra “Mara Rosa – Wilson” apresentou os maiores teores de óleo resina entre todas as amostras estudadas, em ambas as localidades.

- **Extração de curcumina**

O resultado do delineamento utilizado para a avaliação da influência dos fatores estudados na extração do óleo resina de cúrcuma indicou que apenas a temperatura de extração e o tamanho das partículas apresentaram influência significativa no rendimento do processo. A Figura 1 apresenta os resultados do estudo.

Esses resultados são compatíveis com os resultados divulgados por MANZAN *et al.* (2003), que indicou a temperatura de extração, o tamanho da partícula e o tempo de extração como variáveis significativas no rendimento da extração de óleo resina de cúrcuma usando etanol como solvente.

TABELA 1. Resultados de análises de curcumina (base seca) em cúrcumas plantadas em Monte Alegre do Sul e Piracicaba.

Nº	Acessos	Monte Alegre do Sul			Piracicaba		
		Curcumina (g/100g)	s	Tukey (95%)	Curcumina (g/100g)	s	Tukey (95%)
1	04-24MG	4,51	0,23	bcdefgh	3,42	0,04	defghi
2	Mara Rosa - Raimundo	4,19	0,04	ghij	3,29	0,15	hi
3	Mara Rosa - Moacir	4,14	0,05	hij	3,55	0,18	abcdefghi
4	Mara Rosa - Sebastião Félix	4,64	0,15	abcdefg	3,94	0,05	ab
5	Sem nome	4,17	0,05	hij	3,61	0,01	abcdefgh
6	Mara Rosa - Antônio Nunes	4,63	0,01	abcdef	3,40	0,19	efghi
7	Mara Rosa - Edivaldo	4,96	0,28	a	3,61	0,04	abcdefghi
8	Mara Rosa - Bento	4,05	0,10	ij	3,63	0,03	abcdefgh
9	Santa Rosa	4,66	0,21	abcdef	3,85	0,20	abc
10	Mara Rosa - Sebastiana	NA	NA		3,88	0,00	abc
11	Campinas (IAC -)	NA	NA		0,22	0,00	k
12	Mara Rosa - Dêlcio	NA	NA		NA		
13	Mara Rosa - Diquinho	4,80	0,01	abcdabcdef	3,58	0,09	bcdefghi
14	Campinas (IAC 22)	4,65	0,14	abcdef	3,77	0,06	abcde
15	Lavras	4,34	0,07	efghij	3,79	0,06	abcd
16	Mara Rosa - Cláudio	4,82	0,01	abcd	3,74	0,09	abcdef
17	Mara Rosa - Zé Branco	4,65	0,11	abcdef	3,72	0,03	abcde
18	Campinas (M22-IAC 3)	4,88	0,03	ab	NA		
19	M22-1	NA	NA		3,36	0,13	efghi
20	Mara Rosa - Mário	NA	NA		3,32	0,07	ghi
21	Rubiataba - Duarte	4,64	0,01	abcdef	3,58	0,04	abcdefgh
22	Mara Rosa - Wilson	4,19	0,03	ghij	3,90	0,06	abc
23	Campinas (6 IAC +)	NA	NA		NA		
24	MG (M24)	4,46	0,07	bcdefghi	3,66	0,08	abcdefg
25	Mara Rosa - Divino	4,71	0,01	abcde	3,41	0,03	efghi
26	M22-B	4,26	0,00	fghij	3,38	0,05	fghi
27	M22-C	NA	NA		2,85	0,17	ij
28	Mara Rosa - Marião	NA	NA		NA		
29	Goiânia - Henriqueta	4,04	0,06	j	3,83	0,01	abc
30	Mara Rosa - José Venâncio	4,35	0,03	dfghij	3,91	0,05	j
31	Mara Rosa - Gabriel	4,73	0,15	abcde	3,29	0,09	hi
32	Mara Rosa - Dona Nega	4,59	0,07	abcdefg	3,59	0,08	abcdefgh
33	Ibitinga	4,69	0,03	abcde	3,33	0,06	fghi
34	Mara Rosa - Dona Tereza	4,85	0,03	abc	3,95	0,06	a
35	Botucatu	4,26	0,08	fghij	3,43	0,10	defghi
36	Campinas (M25 IAC)	4,07	0,08	ij	3,19	0,20	ij
37	Mara Rosa - Estevão	4,44	0,03	cdefghij	3,45	0,08	cdefghi
38	Goiás	4,43	0,05	defghij	3,55	0,03	abcdefgh
39	MG	4,41	0,11	defghij	3,19	0,06	hi
40	IAC 7(-)	4,32	0,07	efgh	3,44	0,09	efghi
41	IAC 6(+)	4,20	0,12	ghij	0,24	0,01	k

Média de duas repetições analíticas simultâneas e independentes; s = estimativa de desvio padrão. NA = não analisada; As médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes (Tukey, 95%).

**TABELA 2. Resultados de análises de óleo resina (base seca) em cúrcumas plantadas em Monte Alegre do Sul e Piracicaba.**

Nº	Acessos	Monte Alegre do Sul			Piracicaba		
		Óleo resina (g/100g)	s	Tukey (95%)	Óleo resina (g/100g)	s	Tukey (95%)
1	04-24MG	12,38	0,14	g	11,27	0,01	c
2	Mara Rosa - Raimundo	9,90	0,19	h	11,28	0,19	c
3	Mara Rosa - Moacir	12,38	0,05	g	11,18	0,08	c
4	Mara Rosa - Sebastião Félix	12,71	0,21	g	11,15	0,07	c
5	Sem nome	12,46	0,02	g	9,16	0,08	e
6	Mara Rosa - Antônio Nunes	12,65	0,02	g	9,07	0,01	e
7	Mara Rosa - Edivaldo	12,51	0,04	g	11,08	0,22	c
8	Mara Rosa - Bento	14,73	0,07	e	9,01	0,24	e
9	Santa Rosa	12,72	0,11	g	11,31	0,23	c
10	Mara Rosa - Sebastiana	NA	NA		9,82	0,05	d
11	Campinas (IAC -)	NA	NA		13,47	0,06	b
12	Mara Rosa - Dêlcio	NA	NA		NA	NA	
13	Mara Rosa - Diquinho	18,90	0,39	b	10,99	0,24	c
14	Campinas (IAC 22)	14,68	0,02	e	11,29	0,31	c
15	Lavras	12,38	0,05	g	11,01	0,01	c
16	Mara Rosa - Cláudio	16,58	0,16	d	9,79	0,15	d
17	Mara Rosa - Zé Branco	12,17	0,07	g	9,16	0,00	e
18	Campinas (M22-IAC 3)	7,61	0,21	i	NA	NA	
19	M22-1	NA	NA		11,33	0,12	c
20	Mara Rosa - Mário	NA	NA		11,03	0,12	c
21	Rubiatoba - Duarte	19,48	0,44	b	11,02	0,06	c
22	Mara Rosa - Wilson	20,71	0,13	a	14,29	0,10	a
23	Campinas (6 IAC +)	NA	NA		NA	NA	
24	MG (M24)	12,28	0,33	g	10,99	0,01	c
25	Mara Rosa - Divino	19,33	0,42	b	10,86	0,13	c
26	M22-B	12,84	0,06	g	11,35	0,10	c
27	M22-C	NA	NA		14,12	0,26	a
28	Mara Rosa - Marião	NA	NA		NA	NA	
29	Goiânia - Henriqueta	13,86	0,38	f	11,11	0,13	c
30	Mara Rosa - José Venâncio	12,62	0,13	g	11,21	0,03	c
31	Mara Rosa - Gabriel	12,60	0,01	g	13,14	0,11	b
32	Mara Rosa - Dona Nega	17,91	0,34	c	10,94	0,21	c
33	Ibitinga	12,80	0,09	g	9,13	0,09	e
34	Mara Rosa - Dona Tereza	12,85	0,22	g	11,29	0,03	c
35	Botucatu	10,23	0,09	h	10,99	0,03	c
36	Campinas (M25 IAC)	10,49	0,16	h	13,23	0,07	b
37	Mara Rosa - Estevão	12,41	0,03	g	13,14	0,13	b
38	Goiás	12,61	0,10	g	12,95	0,33	b
39	MG	12,96	0,08	g	9,33	0,25	d
40	IAC 7(-)	12,75	0,02	g	7,16	0,06	f
41	IAC 6(+)	12,44	0,07	g	9,09	0,10	e

Média de duas repetições analíticas simultâneas e independentes; s = estimativa de desvio padrão. NA = não analisada; As médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes (Tukey, 95%).

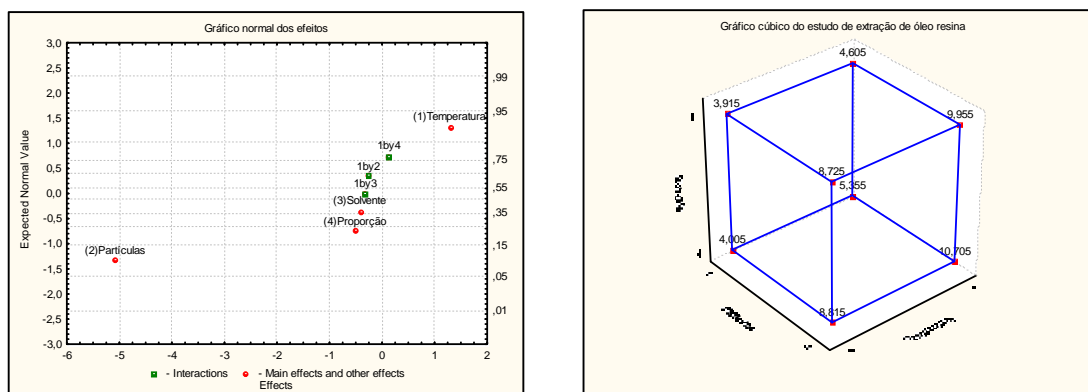


FIGURA 1. Contrastes, gráfico dos efeitos e úbico resultantes do planejamento fatorial  $2^{4-1}$  utilizado no estudo de extração de óleo essencial de cúrcuma.

A Figura 2 apresenta o Gráfico de Pareto resultante do planejamento fatorial utilizado para o estudo de cristalização da curcumina. Nessa figura fica evidente que apenas a concentração do óleo resina apresentou influência significativa no processo de cristalização da curcumina.

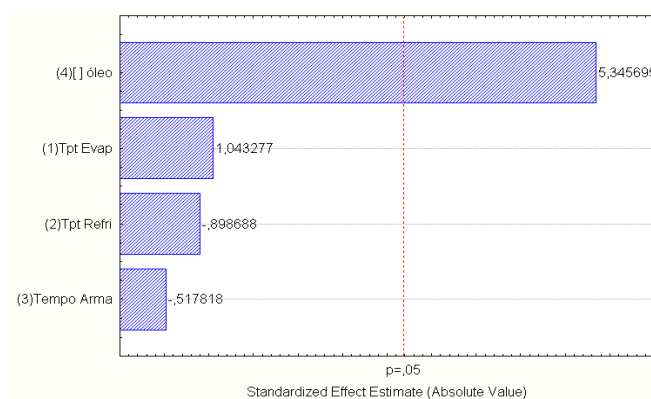


FIGURA 2. Gráfico de Pareto resultante do planejamento fatorial  $2^{4-1}$  utilizado no estudo de cristalização da curcumina.

### - Processo proposto

O processo consiste na extração do óleo resina da cúrcuma, com etanol hidratado, na proporção de duas partes de solvente para uma parte de matéria prima. O extrato é separado da torta por um sistema de filtração. A torna retorna para novo processo de extração e o extrato etanólico é encaminhado para a concentração. O óleo resina concentrado é encaminhado para a cristalização por choque térmico. A cristalização é completada por um período de 48 horas e os cristais são separados por filtração. Os cristais de curcumina são lavados com etanol e secos em um secador de bandejas a uma temperatura de 60°C. O rendimento do processo é de 65% de curcumina cristalizada.



## CONCLUSÃO

A metodologia utilizada para a determinação da concentração de curcumina apresentou boa linearidade, sensibilidade e precisão e foi robusta para pequenas alterações. Houve diferença significativa (95%) para entre as amostras provenientes dos dois locais de cultivo (Piracicaba e Monte Alegre do Sul), indicando uma contribuição significativa nas condições de cultivo para o teor de curcumina das amostras. O estudo de extração de óleo essencial indicou uma contribuição significativa (95%) para a temperatura de extração e o tamanho das partículas. A concentração do óleo resina foi o fator significativo no processo de cristalização da curcumina.

## AGRADECIMENTOS

- Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa concedida ao primeiro autor e à FAPESP pelo financiamento à pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L. P. Caracterização de pigmentos da *Curcuma longa*, L., avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese in vitro na produção de curcuminóides e óleos essenciais. Dissertação de Doutorado. Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2006, 120p.
- ARAUJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.
- GOVIDARAJAN, V. S. Turmeric – Chemistry, Technology and Quality. **CCR Critical Review in Food Science and Nutrition**. Boca Raton, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.
- HORWITZ, W. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. **Analytical Chemists**, v. 54, n. 1, p. 67A – 76A, 1982.
- LARA, W. H. Monografia de corantes naturais para fins alimentícios–padrões de identidade e qualidade. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1984, 47p.
- MANZAN, A. C. C. M.; TONIOLO, F. S.; BREDOW, E.; POVH, N. P. Extration of essential oil and pigments from *Curcuma longa* [L.] by steam distillation and extraction with volatile solvents. **J. Agric. Food Chem.** v. 51, n. 23, p. 6802 – 6807, 2003.
- PEREIRA, A. S.; STRINGHETA, P. C. Considerações sobre a cultura e processamento do açafrão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 102-105, 1998.
- SIGRIST, M. S. Divergência genética em *Curcuma longa* L. utilizando marcadores microsatélites e agromorfológicos. Dissertação de Mestrado. Instituto Agrônomo. Campinas. 2009, 82p.