



SEPARAÇÃO DA “FRAÇÃO AZUL” DO ÓLEO DE SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana* L.)

Juliana Lima **Porto**¹; João Paulo Ribeiro **Boemer**²; Beatriz Maluf Dória de Oliveira³; Natani de Paula Lima **Amaro**⁴; Paulo Roberto Nogueira **Carvalho**⁵.

Nº 20217

RESUMO - As sementes de urucum são predominantemente utilizadas na produção de um dos corantes naturais mais utilizados pela indústria de alimentos, entretanto, sempre foi citado seu uso na medicina doméstica por possivelmente apresentar efeitos anti-inflamatório, antibiótico, antifúngico, antiviral, entre outros. Essas atividades indicam que os grãos de urucum possuem substâncias com propriedades farmacológicas, dentre elas, o geranilgeraniol, que já é utilizado na profilaxia e no tratamento de diversos tipos de câncer e os tocotrienóis, estruturas químicas com forte atividade antioxidante, pertencente ao grupo de substâncias com atividade vitamínica E. Essas duas substâncias já são utilizadas pela indústria farmacêutica. Em estudos anteriores para estabelecer uma tecnologia para a separação dessas substâncias, foi observada uma fração com forte tonalidade azul que avaliações preliminares constataram se tratar de uma mistura de substâncias com a presença de vários derivados do azuleno, um fitoterápico com grande atividade anti-inflamatória. Os estudos de separação dessa fração azul no material insaponificável do óleo de urucum indicou um rendimento de aproximadamente 11% (v/v).

Palavras-chaves: Urucum; *Bixa orellana* L.; Fração azul.

¹ Autora, Bolsista CNPq (PIBIT): Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA – UNICAMP, Campinas – SP; portoljuliana@gmail.com

² Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIT): Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA – UNICAMP, Campinas – SP.

³ Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIT): Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA – UNICAMP, Campinas – SP.

⁴ Colaborador, Bolsista FAPESP (TT3): Pós graduada (Mestrado) em Tecnologia de Alimentos – FEA – UNICAMP, Campinas – SP.

⁵ Orientador: Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas – SP; carvalho@ital.sp.gov.br



ABSTRACT - Annatto seeds are predominantly used in the production of one of the most used natural dyes in the food industry, however, their use in domestic medicine has always been cited as possibly presenting anti-inflammatory, antibiotic, antifungal, antiviral effects, among others. These activities indicate annatto grains have substances with pharmacological properties, among them, geranylgeraniol, which is already used in the prophylaxis and treatment of various types of cancer and the tocotrienols, chemical structures with strong antioxidant activity, belonging to the group of substances with vitamin E activity. These two substances are already used by the pharmaceutical industry. In previous studies to establish a technology for the separation of these substances, a fraction with a strong blue tint was observed that preliminary evaluations found that it is a mixture of substances with the presence of various derivatives of azulene, a phytotherapeutic with great anti-inflammatory activity. The separation studies of this blue fraction in the unsaponifiable material of annatto oil indicated a yield of approximately 11% (v/v).

Keywords: Annatto; *Bixa orellana* L.; Blue fraction

1 INTRODUÇÃO

Este estudo faz parte de um conjunto de projetos que tem como finalidade estabelecer tecnologias para a separação e caracterização de um grupo de substâncias com atividades fitoterápicas, presentes no material insaponificável do óleo de urucum. Entre essas substâncias destacam-se o geranilgeraniol e os tocotrienóis fitoterápicos já conhecidos e comercializados a partir de sementes de urucum e a fração de cor azul, objeto desse estudo. Para isso, as atividades necessárias para o conhecimento dos produtos e processos, imprescindíveis para o estabelecimento dessa tecnologia, foram divididas em projetos, onde cada um contempla a obtenção de informações importantes para o que foi proposto. A Figura 1 indica os projetos que participam desses estudos (em destaque, em azul, a contribuição do presente projeto).

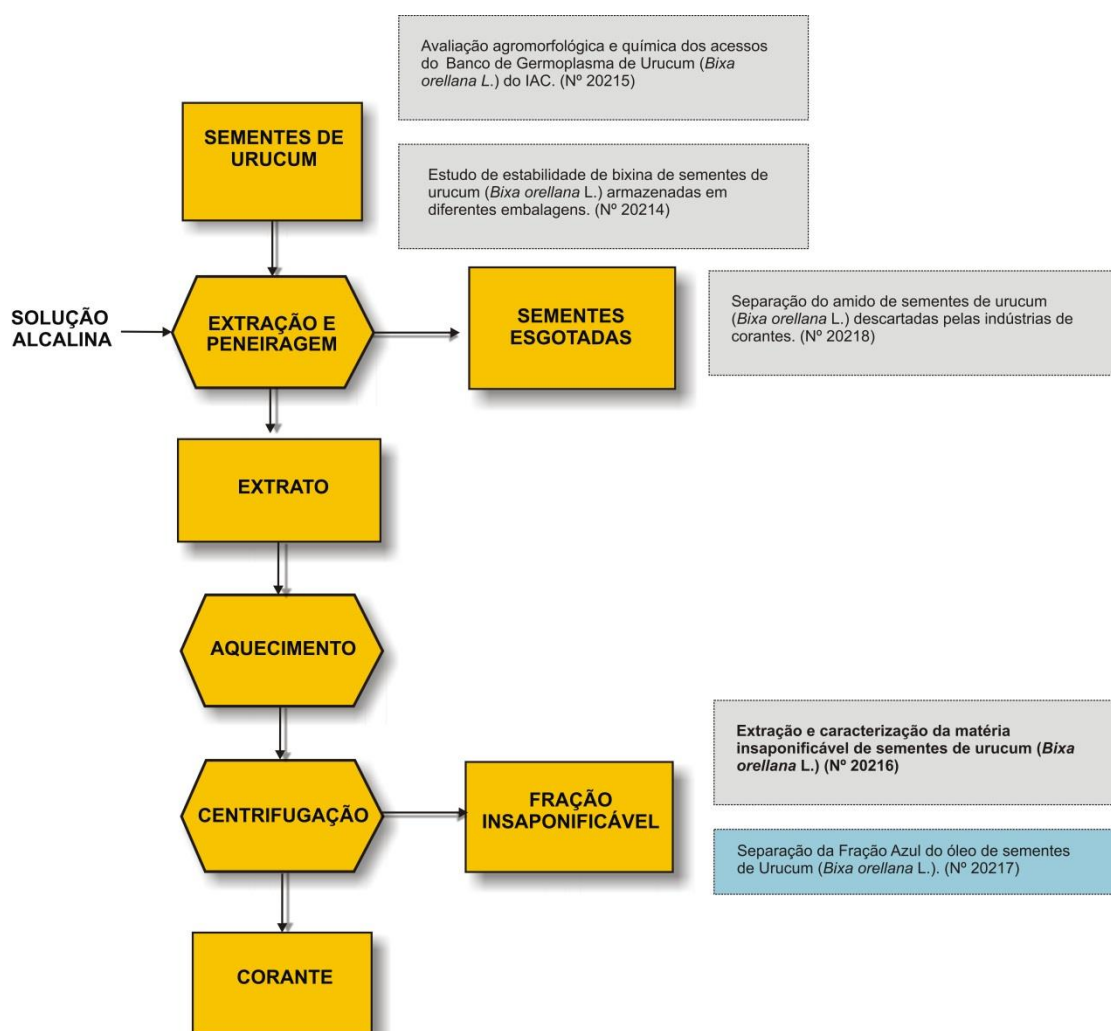


Figura 1. Localização da contribuição dos diferentes estudos no processo de separação da Fração Azul do óleo de urucum. Trabalhos apresentados no 14º Congresso de Iniciação Científica (CIIC 2020).



Entre esses projetos destacam-se: a) o conhecimento da variação de características importantes das sementes de urucum, buscando avaliar a concentração de pigmentos e lipídios de 63 acessos urucum da coleção do IAC, localizado em Pindorama - SP e de sementes de plantações já consolidadas da região da Alta Paulista, considerada a região de maior produção dessa cultura do Estado de São Paulo [**Avaliação agromorfológica e química dos acessos do banco de germoplasma de urucum (*Bixa orellana* L.) do IAC**]; b) a avaliação da estabilidade dos pigmentos das sementes de urucum armazenadas sob vácuo, que procurou avaliar a diferença de estabilidade dos pigmentos do urucum armazenadas em embalagens tradicionais (rafia) e em embalagens com barreira a luz, oxigênio e vapor de água [**Estudo de estabilidade de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) armazenadas em diferentes embalagens**]; c) o estudo sobre o aproveitamento das sementes descartadas pela indústria de corantes, que buscou agregar valor à produção de corante e à separação de fitoterápicos dessa cultura [**Separação do amido de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) descartadas pelas indústrias de corantes**]; d) o estudo da concentração da fração insaponificável presentes nas sementes de urucum [**Extração e caracterização da matéria insaponificável de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)**]. e) o estabelecimento das condições para a separação da fração de coloração azul, cuja hipótese é a presença, na fração insaponificável do óleo de urucum, de derivados do azuleno, um importante anti-inflamatório de origem natural [**Separação da fração azul do óleo de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)**];

O urucum (*Bixa orellana* L.) é uma planta nativa da América Tropical, proveniente da flora amazônica, sendo utilizado por populações indígenas muito antes do descobrimento do Brasil. Atualmente a indústria utiliza grande parte desses grãos para a produção de corantes para a indústria de alimentos e de um tradicional condimento, denominado colorau. O pigmento encontrado nas sementes de urucum apresenta coloração amarelo avermelhado devido à bixina, um apocarotenoide cuja concentração equivale a aproximadamente 80% dos carotenoides presentes nesses grãos (Garcia *et al.*, 2012).

Embora seja predominantemente utilizado na indústria para a produção de corante, o grão de urucum ganhou notoriedade por apresentar substâncias com propriedades farmacológicas. (Carvalho, 2018). Na literatura é possível encontrar citações sobre populações indígenas utilizando o urucum como repelente, protetor da pele contra raios solares, e no combate a enfermidades (Moraes *et al.*, 2005). As substâncias contidas no urucum estão presentes há muito tempo na medicina doméstica por seus possíveis efeitos anti-inflamatório, antimalárico, cardiotônico, digestivo, estomáquico, expectorante, febrífugo, hipotensivo, laxativo, entre outros (Monzonte *et al.*,



2013; Capella *et al.*, 2016; Ulbricht *et al.*, 2012; Sangvikar *et al.*, 2015; Chandel *et al.*, 2014; Tan, 2004; Yong *et al.*, 2013; Vilar *et al.*, 2014; Pérez & Sánchez, 2010).

Todos esses estudos indicam que nas sementes de urucum podem estar presentes substâncias que, em conjunto ou isoladamente, conferem atividades fitoterápicas. Estudos com o urucum na busca por essas substâncias possibilitou a publicação de inúmeros artigos científicos e o registro de várias patentes como a de uma pomada e uma solução para ser usada na cicatrização de feridas na epiderme e das mucosas em geral (Reis, 2010). Além disso, foram desenvolvidas e patenteadas tecnologias para a separação de compostos como geranilgeraniol e tocotrienóis possibilitando seu uso como suplemento nutricional (Tan & Foley, 2002; Tan, 2004; Carvalho & Silva, 2018).

O geranilgeraniol (all trans-3, 7, 11, 15-tetrametilhexadecatetra-2, 6, 10, 14-em-1-ol) é um diterpeno presente nas sementes de urucum em concentrações que podem chegar a 30% no material insaponificável desses grãos (Costa *et al.*, 2005, Jondiko e Pattenden, 1989; Barbosa Filho, 2006). Estudando 84 acessos de sementes do banco de germoplasma de urucum do Instituto Agrônomo (IAC), o Laboratório de Pigmentos Naturais do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) encontrou concentrações de geranilgeraniol que variaram de 0,49 a 2,62g/100g (Dequigiovani *et al.*, 2017).

Estudos revelaram que o geranilgeraniol apresenta efeitos anti-inflamatório, antinociceptivo e antiproliferativo (Grando, 2017). Além disso, tem sido utilizado no tratamento do *Tripanossoma cruzi* (Menna-Barreto *et al.*, 2008), da *Micobacteria tuberculosis* (Vik *et al.*, 2007) e na inibição de *Staphylococcus aureus* (Inoue *et al.*, 2005).

Outras importantes substâncias contidas nas sementes de urucum e já comercializadas são os tocotrienóis. Os tocotrienóis são substâncias com atividade vitamínica E, com propriedades neuro-protetivas, anti-câncer e redutoras de colesterol (Sem, *et al.*, 2007; Watson & Preedy, 2009; Qureshi *et al.*, 2015; Tan, 2005; Pearce *et al.*, 1992). O estudo conduzido pelo Laboratório de Pigmentos Naturais do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos do ITAL, com sementes do banco de germoplasma de urucum do IAC, constatou que a concentração de tocotrienóis variou (em base seca) de 0,25 g/100g a 1,41 g/100g (Dequigiovani *et al.*, 2017).

Além das substâncias como o geranilgeraniol e os tocotrienóis, estudos realizados no ITAL sugerem a possível presença de derivados do azuleno. A presença dessas substâncias pode ajudar a explicar algumas das propriedades farmacológicas atribuídas à esses grãos. O azuleno (biciclo-5,3,0-decapentaeno) e seus derivados são conhecidos por propriedades anti-inflamatórias (Gordon, 1952; Safayhi *et al.*, 1994; Garrera *et al.*, 2001; Chavan *et al.*, 2012).



Esse estudo teve como objetivo a separação da fração azul presente no material insaponificável das sementes de urucum.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

O material insaponificável das sementes de urucum utilizado neste estudo foi obtido junto a uma empresa de produção de corante da região de Americana - SP. Um resumo do processo de obtenção está descrito a seguir: os pigmentos das sementes de urucum foram extraídos utilizando soluções alcalinas que têm a finalidade de desesterificar a bixina e os lipídios presentes nesses grãos. A bixina é transformada em sal de norbixina e permanece na fração aquosa e o material insaponificável é separado por decantação ou centrifugação. O fluxograma simplificado desse processo está apresentado na Figura 1.

Duas amostras do material insaponificável de lotes diferentes foram utilizadas neste estudo e caracterizadas quanto à concentração de carotenoides totais (expressos como bixina), umidade, pH, densidade, tocotrienóis e geranilgeraniol.

2.2 Equipamento

O sistema utilizado para o fracionamento do material insaponificável do óleo de urucum consistiu de: uma manta de aquecimento (marca Satra – modelo AMS905), com controle de temperatura e agitação. Um balão de fundo redondo, de 2 litros, com três bocas que se conectavam a um termopar e a um condensador de serpentina. O condensador foi mantido resfriado a uma temperatura de 3° ($\pm 1^{\circ}\text{C}$), com o uso de um banho de circulação de água (marca Logen, modelo LS540). Um reservatório com gelo seco foi instalado entre o condensador e o sistema de geração de vácuo, servindo como *trap*⁶ para substâncias com alta pressão de vapor. O vácuo do sistema foi mantido com o auxílio de uma bomba de vácuo, marca Alpax, modelo PC3001. As frações separadas foram recolhidas em um funil de separação acoplado ao condensador. Entre o *trap* e a bomba de vácuo foi instalado um sistema para a coleta do material retido pelo *trap*. A Figura 2 apresenta o equipamento utilizado nesses processos.

2.3 Metodologia de separação da “fração azul”

Um volume de 700 mL da matéria insaponificável de urucum e 200 mL de óleo vegetal foi adicionado ao balão de 2L. O sistema foi fechado e a agitação foi iniciada. A bomba de vácuo foi ligada, estabelecendo um vácuo inicial de 900 mbar e o aquecimento foi iniciado. O processo de

⁶ *Trap*: Espécie de condensador que captura por refrigeração substâncias de alta pressão de vapor.

fracionamento foi conduzido com o controle da pressão, de forma a não ocorrer o arraste do óleo bruto para o sistema de condensação. Esse arraste é provocado pela ebulição da água residual presente na matéria insaponificável. A pressão foi diminuída continuamente e a temperatura monitorada e registrada.



Figura 2. Sistema de Destilação utilizado para a separação da fração azul.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises de caracterização da matéria insaponificável utilizadas neste estudo. Os resultados indicaram uma elevada concentração de água que permanece em suspensão na fração insaponificável após a separação pelo processo de centrifugação. A concentração de umidade ficou próxima à apresentada por Cunha *et al.* (2016), que encontraram 41,3 ($\pm 1,2$) g/100g nesse tipo de produto. Esse mesmos autores encontraram na fração insaponificável de sementes de urucum, concentrações de geranilgeraniol e tocotrienóis iguais a 27,6 ($\pm 0,1$) g/100g e 6,5 ($\pm 0,1$) g/100g, respectivamente. Esses valores divergem dos observados neste estudo e podem ser explicados por fatores como variedade das plantas que deram origem às sementes, tratos culturais, tempo de armazenamento, entre outros.

A separação da fração azul do material insaponificável das sementes de urucum foi conduzida utilizando o equipamento de destilação descrito neste relatório. Após vários ensaios as condições de separação da fração azul foram estabelecidas, controlando fatores como a pressão e a temperatura do sistema de destilação.



O processo contemplou a separação inicial da água e de substâncias com elevada pressão de vapor, seguida pela destilação de uma fração intermediária, de cor amarela, possivelmente composta por substâncias como monoterpenos e outras substâncias de baixa massa molecular e com pressão de vapor superior aos componentes da fração azul. A fração azul é evaporada logo após uma fração de coloração amarela, sobrepondo a ela durante processo de destilação. Essa sobreposição foi parcialmente controlada com “cortes” no processo de destilação assim que se observava o início da destilação da fração azul.

Tabela 1. Resultados das análises de caracterização da matéria insaponificável utilizadas neste estudo⁷.

Análises ¹	Amostra 1	T ³	Amostra2	T ³
Umidade (g/100g)	50,2 (1,24)	a	40,7 (0,57)	b
Bixina ² (g/100g)	2,07 (0,03)	a	2,27 (0,17)	a
pH	12,3	-	11,8	-
Densidade (g/mL)	0,98 (0,1)	a	0,99 (0,1)	a
Geranilgeraniol (g/100g)	9,15 (3,09)	a	5,86 (0,06)	a
γ-Tocotrienol (g/100g)	1,41 (0,03)	a	1,31 (0,01)	b
δ-tocotrienol (g/100g)	9,05 (0,21)	a	7,11 (0,01)	b
Tocotrienol Total (g/100g)	10,46	a	8,42	b

¹Média de, no mínimo duas repetições analíticas, simultâneas e independentes (estimativa de desvio padrão); ²Bixina = carotenóides totais expressas como bixina. ³Tukey (p < 0,05): as médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não são significativamente diferentes.

A quantidade de água recuperada no processo de destilação foi de aproximadamente 150 mL, representando aproximadamente 20% da matéria-prima adicionada ao sistema. Essa menor proporção quando comparada com o resultado da análise de umidade da matéria-prima pode ser explicada pela evaporação simultânea de substâncias de alta pressão de vapor, presentes na fração insaponificável, e que é determinada como “umidade” no processo analítico.

A fração intermediária, de coloração amarela, representou aproximadamente 4% do material destilado ou 30mL. O volume da fração azul separada foi de aproximadamente 80mL ou 11% do material insaponificável adicionado ao sistema de destilação.

⁷ Essa caracterização foi conduzida junto com o projeto “*Extração e caracterização da matéria insaponificável de sementes de urucum (Bixa orellana L.)*” e o resultado está apresentado em ambos os artigos.

A Tabela 2 apresenta os volumes de cada uma das frações separadas em dois dos processos de destilação conduzidos neste estudo.

Tabela 2. Volumes de cada uma das frações separadas em duas repetições do processo de destilação conduzidos neste estudo.

Ensaio	Água ¹ (mL)	Fração intermediária ² (mL)	Fração azul (mL)
1	150	30	71
2	150	27	78

¹Água e voláteis com elevada pressão de vapor; ²Fração amarela.

A Figura 3 apresenta o gráfico da evolução do processo de destilação, com a indicação do início e fim de cada segmento considerado como etapas neste processo (Etapa 1 – destilação de água; Etapa 2 – destilação da fração intermediária (fração amarela); Etapa 3 – destilação da fração azul). As cores apresentadas no gráfico representam os “cortes” realizados durante o processo de destilação. A Figura 4 apresenta uma imagem da fração azul separada por esse sistema.

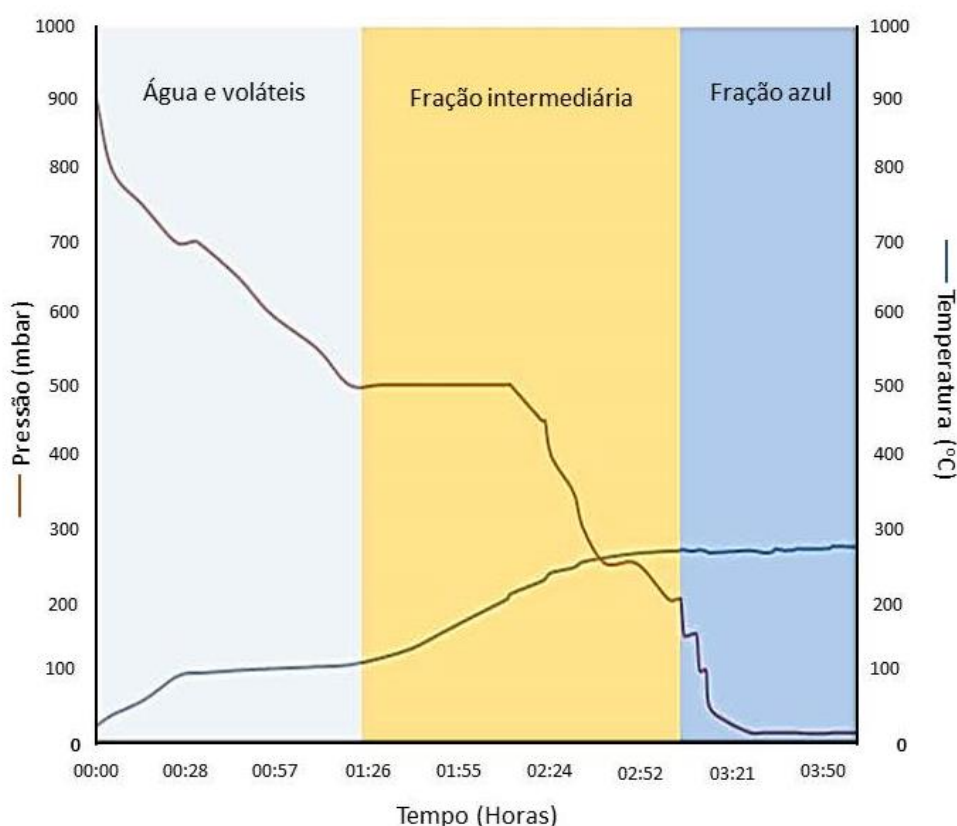


Figura 3. Variação da pressão e temperatura durante as diferentes fases do processo de destilação para a separação da fração azul.



Figura 4. Fração azul separada pelo processo de destilação descrito neste artigo.

4 CONCLUSÃO

O processo de separação da fração azul mostrou-se factível, com um rendimento de aproximadamente 11%. A identificação dos componentes dessa fração faz parte da continuidade do estudo que contempla também a caracterização das atividades fitoterápicas em parceria com a Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unicamp, por meio de projeto aprovado junto à Fapesp.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida ao primeiro autor.

6 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, C. L. C. **Obtenção de sementes desengorduradas e de óleo rico em tocotrienóis de urucum por extração supercrítica: estudo dos parâmetros de processo, do aumento de escala e da viabilidade econômica.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2013, 288p.
- BARBOSA FILHO, J. M. *Bixa orellana*: Retrospectiva de usos populares, atividades biológicas, fitoquímica e emprego na fitocosmética, no continente americano. In: **Anais do Simpósio Brasileiro de Urucum**, João Pessoa, PB, (Mídia eletrônica-CD), 2006.
- CAPELLA, S. O.; TILLMANN, M. T.; FELIX, A. O. C.; FONTOURA, E. G.; FERNANDES, C. G.; FREITAG, R. A.; SANTOS, M. A. Z.; FELIX, S. R.; NOBRE, M. O. Potencial cicatricial da *Bixa orellana* L. em feridas cutâneas: estudo em modelo experimental. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 68, n. 1, p. 104-112, 2016.



- CARVALHO, P. R. N. **Urucum, situação atual e perspectivas**. In: www.ourucum.com.br. Março de 2018. Disponível em https://docs.wixstatic.com/ugd/413a1a_8b6dbf6ffcc94fb0b3964332_20a58240.pdf. Acessado em 31/10/2018
- CARVALHO, P.R.N.; SILVA, M. G. Processo de extração de geranylgeraniol e tocotrienóis a partir de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.), utilizando etanol. Patente BR 102018075756-3, 2018, 18p.
- CHANDEL, U.; BEGUM, T.; SYEDY, M. Pharmacological Studies of Annatto (*Bixa orellana* L.). **Int. J. Pharm. Biom. Res.** v. 1, n. 1, p. 17-20, 2014.
- CHAVAN, M. J.; WAKTE, P. S.; SHINDE, D. B. Analgesic and anti-inflammatory activities of the sesquiterpene fraction from *Annona reticulate* L. bark. **Nat. Prod. Res.** v. 26, n. 16, p. 1515-1518, 2012.
- COSTA, C.L.S.; CHAVES, M.H. Extração de pigmentos das sementes de *Bixa orellana* L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Química Nova**. v. 28, n. 1, p.149-152, 2005
- CUNHA, L. H. M.; FABRI, E. G.; SILVA, M. G.; MARTINS, A. L. M.; CARVALHO, P. R. N. I - Estudo fitoquímico das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). II - Estabilidade da fração insaponificável do óleo de urucum. In: **Anais do X CIIC - Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica**. 2016. Disponível em: <http://www2.aptaregional.sp.gov.br/ciic2017/resumo2016/ITAL/RE16226.pdf>.
- DEQUIGIOVANNI, G.; RAMOS, S. L. F.; ALVES-PEREIRA, A.; FABRI, E. G.; CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G.; ABDO, M. T. V. N.; MARTINS, A. L. M.; CLEMENT, C. R.; VEASEY, E. A. Genetic diversity and structure in a major Brazilian annatto (*Bixa orellana*) germoplasm bank revealed by microsatellites and phytochemical compounds. **Genet. Resour. Crop Evol.** 2017 - DOI: 10.1007/s10722-017-0535-z.
- GARCIA, C. E. R.; BOLGNESI, V. J.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O. G.; COSTA, C. K. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidante em produtos cárneos. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 42, n. 8, p. 1510-1517, 2012.
- GARRERA, M.; TURBINO, L.; REBORA, A. The anti-inflammatory activity of azulene. **J. Eur. Acad. Derm. Ven.** v. 15, p. 486,496. 2001.
- GORDON, M. The Azulenes. **Chemical Review**, 5v. 50, n. 1, p. 127-200, 1952.
- GRANDO R. ***Pterodon pubescens* Benth: Avaliação do efeito sinérgico dos vouacapanos e geranylgeraniol sobre atividade anti-inflamatória, antinociceptiva e antiulcerogênica in vivo** Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2017, 134p.
- INOUE, Y.; HADA, T.; SHIRAISHI, A.; HIROSE, K.; HAMASHIMA, H.; KOBAYASHI, S. Biphasic effects of geranylgeraniol, teprenone and phytol on the growth of *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.** p. 1770-1774, 2005. DOI: 10.1128/AAC.49.5.1770-1774.2005.
- INOUE, Y.; HADA, T.; SHIRAISHI, A.; HIROSE, K.; HAMASHIMA, H.; KOBAYASHI, S. Biphasic effects of geranylgeraniol, teprenone and phytol on the growth of *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.** p. 1770-1774, 2005. DOI: 10.1128/AAC.49.5.1770-1774.2005.
- JONDIKO, I. J.; PATTENDEN, G. Terpenoids and an apocarotenoid from seeds of *Bixa orellana*. **Phytochem.** v. 28, p. 3159-3162, 1989.
- MENNA-BARRETO, LARANJA, G. A. T.; SILVA, M. C. C.; COELHO, M. G. P.; PAES, M. C.; OLIVEIRA, M.M.; CASTRO, S. L. Anti-trypanosoma cruzi activity of *pterodon pubescens* seed oil: geranylgeraniol as the major bioactive component. **Parasitol. Res.** DOI: 10.1007/s00436-008-0937-0.
- MONZOTE, L.; GARCIA, M.; SCULL, R.; CUELLAR, A.; SETZER, W. N. Antileishmanial activity of the essential oil from *Bixa orellana*. **Phytother. Res.** 2013 - DOI: 10.1002/ptr.5055.



- MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Rev. Bras. de Farmacognosia**. v. 15, n. 2, p. 169-177, 2005.
- PEARCE, B. C.; PARKER, R.A.; DEASON, M. E.; QURESHI, A. A.; WRIGHT. Hypocholesterolemic activity of synthetic and natural tocotrienols. **J Med Chem**. v. 35, n. 20, p. 3595-3606, 1992.
- PEREZ, H. C. L.; SÁNCHEZ, G. M. La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. **Rev. Cub. Farm.** v. 44, n. 2, p. 231-244, 2010.
- QURESHI, A. A.; KHAN, D. A.; MAHJABEEN, W.; TRIAS, A. M.; SILSWAL, N.; QURESHI, N. Impact of delta-tocotrienol on inflammatory biomarkers and oxidative stress in hypercholesterolemic subjects. **Clin. Exp. Cardiol.** v. 6, n. 4, 2015.
- REIS, A. J. Extrato vegetal promotor de cicatrização da epiderme e das mucosas, para uso tópico e por via oral. Patente WO 2011091492 A1, 2010
- SAFAYHI, H.; SABIERAJ, J.; SAILER, E. R.; AMMON, P. T. Chamazulene: Na antioxidant type inhibitor of leukotriene B4 formation. **Planta Med.** v. 60, p. 410-413, 1994.
- SANGVIKAR, S. S.; MALGAONKAR, M.; SHARMA, C.; KUMAR, S.; MURTHY, S. N. Comparative phytochemical screening of quantitative and qualitative parameters of *Bixa orellana* L. **World J. Pharm. Pharmaceut. Sci.** v. 4, n. 12, p. 1001-1017, 2015.
- TAN, B. Annatto extract compositions including geranyl geraniol and methods of use. US Patent 2004/0202740 A1, 2004.
- TAN, B. Appropriate Spectrum Vitamin E and New Perspectives on Desmethyl Tocopherols and Tocotrienols. **J. Am Nutr Assoc.** v.8, n.1, p-35-42, 2005.
- TAN, B.; FOLEY, J. **Tocotrienols and geranylgeraniol from *Bixa orellana* by products.** US Patent Nº 6.350.453, 2002.
- ULBRICHT, C.; WINDSOR, R. C.; BRIGHAN, A.; BRYAN, J. K.; CONQUER, J.; COSTA, D.; GIESE, N.; GUILFORD, J.; HIGDON, E. R. B.; HOLMES, K.; ISAAC, R.; JINGST, S.; KATS, J.; PEERY, L.; RUSIE, E.; SAVINAINEN, A.; SCHOEN, T.; STOCK, T.; COLUCCI, S. T.; WEISSNER, W. An Evidence-based systematic review of annatto (*Bixa orellana* L.) by the natural standard research collaboration. **J. Diet. Supp.** v. 9, n. 1, p. 57-77, 2012.
- VIK, A.; JAMES, A. ; GUNDERSEN, L. Screening of terpenes and derivatives for antimycobacterial activity; identification of geranylgeraniol and geranylgeranyl acetate as potent inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* in vitro. **Planta Medica** v.73, n.13, p.1410-1412, 2007.
- VILAR, D. A.; VILAR, M. S. A.; MOURA, T. F. A. L.; RAFFIN, F. N.; OLIVEIRA, M. R.; FRANCO, C. F. O.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M. Tradicional uses, chemical constituents and biological activities of *Bixa orellana* L.: A Review. **Sci. World J.** v. 24, 2014 - DOI.org/10.1155/2014/857292.
- WATSON, R. R.; PREEDY, V. R. (Ed.) **Tocotrienols. Vitamin E beyond tocopherols.** CCR Press. USA. 2009, 424p.
- YONG, Y. K.; ZAKARIA, Z. A.; KADIR, A. A.; SOMCHIT, M. N.; LIAN, G. E. C.; AHMAD, Z. Chemical constituents and antihistamine activity of *Bixa orellana* leaf extract. **BMC Comp. Altern. Med.** v. 13, p. 32, 2013.