



## ESTUDO DE CERA EM SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana* L.)

Débora Ferreira **Deotti**<sup>1</sup>; Vanilda Aparecida Soares de **Arruda**<sup>2</sup>; Roseli Aparecida **Ferrari**<sup>3</sup>; Sueli Regina **Baggio**<sup>3</sup>; Paulo Roberto Nogueira **Carvalho**<sup>4</sup>.

Nº 21221

**RESUMO** – Não há informação na literatura sobre a quantidade e a caracterização do material cerídeo existente na superfície das sementes de urucum. Esse material é facilmente observado na manipulação desses grãos, mas até agora não tem despertado a atenção dos pesquisadores para sua quantificação e caracterização. Contudo, com a evolução dos estudos que buscam separar substâncias de interesse farmacêutico existentes nesses grãos, esse material cerídeo começa a se destacar como um subproduto com grandes possibilidades industriais, tanto pela quantidade como pelas características que avaliações preliminares têm demonstrado. Esse estudo busca responder às principais perguntas geradas por esse interesse. Os resultados obtidos até esse momento levantam mais perguntas que respostas. São as seguintes as hipóteses suscitadas por esse estudo: a) o conteúdo de ceras no arilo das sementes de urucum é muito baixo para ser determinado pelo método aplicado no presente estudo; b) o material cerídeo presente nas sementes de urucum é composto por substâncias que os métodos tradicionais não conseguem separar adequadamente. Diante das dificuldades de quantificação da cera a partir das sementes de urucum optou-se por adiantar o estudo do resíduo industrial, ou seja, avaliar a composição desse produto e, a partir de sua caracterização, identificar o que tem dificultado a separação do material cerídeo das sementes de urucum. Esse estudo encontra-se nessa fase, onde o material cerídeo obtido no processo industrial está sendo analisado para identificação de sua composição e assim poder estabelecer uma metodologia adequada para a análise desse material nas sementes de urucum.

**Palavras-chaves:** Urucum, *Bixa orellana*, cera,

<sup>1</sup> Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIC): Estudante de Engenharia Química – UNICAMP, Campinas – SP. debora.deotti@gmail.com

<sup>2</sup> Colaboradora, Bolsista FAPESP (Pós-Dr.): Pós-graduada em Ciência dos Alimentos – FCF – USP, São Paulo – SP.

<sup>3</sup> Colaboradora, Pesquisadora Científica do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas – SP

<sup>4</sup> Orientador: Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas – SP; carvalho@ital.sp.gov.br



**ABSTRACT** – *There is no information in literature about the amount and the characterization of the waxen material on the surface of annatto seeds. This material is easily observed in the manipulation of these grains, but until now it has not attracted the attention of researchers to its quantification and characterization. However, with the evolution of studies that seek to separate substances of pharmaceutical interest existing in these grains, this waxen material begins to stand out as a by-product with great industrial possibilities, both for the quantity and for the characteristics that preliminary evaluations have demonstrated. This study seeks to answer the main questions generated by this interest. The results obtained so far raise more questions than answers. The hypotheses raised by this study are as follows: a) the content of waxes in the aril of annatto seeds is too low to be determined by the method applied in this study; b) traditional methods cannot adequately separate the substances of which the waxen material present in annatto seeds is composed. In view of the difficulties in quantifying the wax from the annatto seeds, it was decided to start the study of the industrial residue, that is, to evaluate the composition of this product and, from its characterization, identify what has hindered the separation of the waxen material of the annatto seeds. The study is at this stage, where the waxen material obtained in the industrial process is being analyzed for identification of its composition, which can make it possible to establish an adequate methodology for the analysis of this material in annatto seeds.*

**Keywords:** Annatto, *Bixa orellana*, Wax.

## 1. INTRODUÇÃO

O urucum (*Bixa orellana* L.) é a fonte de um corante natural amplamente utilizado na indústria, nos setores alimentício, têxtil e de cosméticos. Sua coloração vem do arilo ceroso das sementes, de cor laranja ou vermelha (FABRI, *et al.*, 2016). Ele tem sido cada vez mais utilizado mundialmente devido às limitações do uso dos corantes artificiais, dados os comprovados danos que causam à saúde (CASTRO *et al.*, 2009).

Contudo, as aplicações do urucum não se reduzem à coloração: a planta é utilizada há muitos séculos entre os povos nativos do Brasil e de outras regiões onde está presente, devido às propriedades fitoterápicas atribuídas a ela. Estudos recentes que buscam mais a fundo compreender essas propriedades do urucum têm encontrado substâncias que desempenham importantes papéis na saúde humana, com destaque para os tocotrienóis e o geranilgeraniol.



Entretanto, ainda há muito a se descobrir sobre o urucum. Apesar de cada vez mais a espécie figurar entre as pesquisas científicas, não há na literatura qualquer informação sobre sua quantidade e caracterização do material cerídeo obtida a partir de sua semente, evidente na manipulação dos grãos.

Ceras são utilizadas em diversas indústrias, como a de adesivos, cosméticos, produtos de limpeza e alimentícia, e, no caso do urucum, esse material ceráceo é um subproduto da produção industrial do corante. Sendo assim, descobertas sobre as propriedades e aplicações desse material são de grande importância para agregar valor à cultura e à indústria do urucum, gerando emprego e renda ao longo de toda a cadeia produtiva.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Matéria-prima**

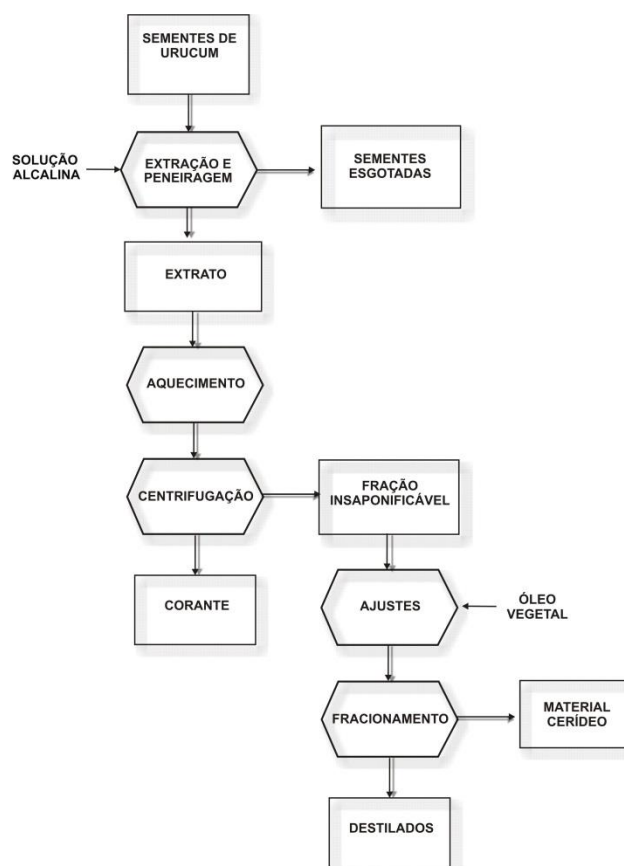
As sementes de urucum utilizadas foram coletadas a plantações já consolidadas de agricultores da região da Alta Paulista. As amostras foram envasadas em sacos metalizados sob vácuo parcial e armazenadas sob refrigeração ( $-10^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

O resíduo cerídeo industrial foi obtido do fracionamento do óleo de urucum por uma Indústria de Americana-SP. A Figura 1 apresenta o fluxograma básico de obtenção do material cerídeo industrial. Durante o processamento desse material é adicionado óleo vegetal para diminuir a viscosidade do extrato durante o processo de destilação.

### **2.2 Métodos**

#### **2.2.1. Umidade**

A análise da umidade das sementes e do resíduo cerídeo industrial foi realizada de acordo com o método descrito pela AOAC (HORWITZ, 2005), baseando-se na determinação indireta da quantidade de água presente nas amostras por gravimetria. Para as sementes foram utilizados 10 g de massa inicial da amostra e para a cera industrial, 5 g.



**Figura 1.** Fluxograma básico (simplificado) da produção industrial do material cerídeo apresentado nesse estudo.

### 2.2.2 Bixina (Carotenoides totais expressos como bixina)

Para análise do teor de bixina, foi usado o método de CARVALHO *et al.*, 2010. A extração dos pigmentos é realizada através da saponificação da bixina em sal de norbixina, utilizando solução alcalina de óleo de rícino. Posteriormente, no caso das sementes, realiza-se o aquecimento e diluição da amostra com solução de hidróxido de potássio 0,5%. Foram utilizados 10 g de sementes como massa inicial. A quantificação da bixina é feita através da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 453 nm,

Para a cera industrial foram usados 25 mg do material, diluídos em 50 mL de clorofórmio. Essa solução foi posteriormente diluída numa razão de 5 mL/25 mL de clorofórmio. A leitura da absorbância para esse solvente foi feita a 470 nm.



### 2.2.2 Determinação dos carotenóides no resíduo industrial por HPLC

A determinação dos carotenóides no resíduo industrial foi realizada de acordo com o método descrito por SCOTTER *et al.*, (1998) através de padronização externa. Para verificar a pureza dos padrões de bixina e norbixina foi utilizada fase móvel composta por acetonitrila: ácido acético 2% (65:35, v/v). Cerca de 20 mg do resíduo industrial foram solubilizados em 50 mL de clorofórmio. A alíquota de 1,0mL da solução, foi evaporada sob fluxo de nitrogênio e diluída em 10 mL da fase móvel para injeção.

Para a separação, 50 µL foram injetados em cromatógrafo líquido da marca Agilent, modelo Infinity 1260, acoplado ao detector de arranjo de diodos modelo G4212B, Detecção a 452 nm. Fase móvel composta por acetonitrila (Grau HPLC) e ácido acético 2% (65:35, v/v), fluxo de 1,0 mL/min. Coluna Lichrospher 100 RP-18, 5µm, 250x4 mm d.i., Merck.

### 2.3.3 Lipídios

A determinação do teor de lipídios nas amostras foi feita com base na metodologia descrita por HORWITZ *et al.* (2005). O método consiste no uso de um extrator de matéria graxa, contendo cartucho de papel de filtro com sementes dentro. O solvente utilizado foi hexano e o refluxo foi mantido por um período de aproximadamente 8 horas. Após a extração, os balões contendo a amostra foram levados ao evaporador rotatório para a recuperação do solvente, e, em seguida, à estufa, a fim de evaporar o solvente residual.

### 2.3.4 Caracterização da composição de ácidos graxos

Foi realizada a análise da composição de ácidos graxos das amostras de semente de urucum, material cerídeo industrial e de óleo vegetal, que participa do processo industrial que dá origem ao material cerídeo industrial. As amostras de óleos previamente extraídos da amostra, foram saponificadas com solução de NaOH 2% em metanol, seguida de esterificação com solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol. Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram identificados com padronização externa e quantificados por cromatografia gasosa (FIRESTONE, 2005; HARTMAN & LAGO, 1973).



#### 2.3.4 Extração e quantificação de ceras em sementes de urucum

Visto que não há na literatura uma metodologia já estabelecida de extração e quantificação de ceras das sementes de urucum, foi usado como referência o método descrito por VIEIRA (2003).

O solvente utilizado foi o hexano e a extração foi feita com extrator tipo Soxhlet, utilizando 100 g de amostra. Após a extração, os balões contendo a amostra foram levados ao evaporador rotatório para a recuperação do solvente e, em seguida, à estufa a fim de evaporar o solvente residual. Os extratos obtidos dessa maneira correspondem a todos os compostos presentes na semente que são solúveis em hexano.

Os extratos foram solubilizados a quente em uma razão de 1:20 (p/v) de hexano e mantidos na geladeira a 10°C até o dia seguinte, quando foi observado um precipitado no fundo do frasco. Uma das amostras foi filtrada a vácuo com papel de filtro de 2,7 µm e lavada com hexano e acetona a 10°C. As amostras restantes, antes da filtração, foram centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos, a 10°C

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os resultados das análises realizadas com as sementes de urucum.

As análises de sementes utilizadas nesse estudo indicaram uma concentração de lipídios dentro dos valores observados nas publicações sobre o tema. CARVALHO *et al.* (2010) apresentaram concentrações de lipídios que variaram de 2,0% a 4,5% nas análises de 25 acessos do banco de germoplasma de urucum do Instituto Agrônomo de Campinas. Uma nova avaliação das análises de lipídios (extrato hexânico) de acessos dessa mesma coleção, dessa vez com 57 acessos da safra de 2019, apresentado no 14º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica (CIIC - 2020), indicaram um valor médio de 3,64%  $\pm$  1,13%, com uma variação de 1,81% a 6,82% (OLIVEIRA *et al.*, 2020).



**15º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2021**  
**01 a 02 de setembro de 2021**  
**ISBN 978-65-994972-0-9**

**Tabela 1** - Resultados das análises de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, carotenóides totais expressos como bixina e impurezas na amostra de sementes de urucum (g/100 g de amostra), em base seca.

Análise	Resultado
Umidade	9,19 ± 0,02
Cinzas	5,75 ± 0,19
Lipídeos (Extrato hexânico)	3,36 ± 0,10
Proteínas	12,66 ± 0,06
Carboidratos	70,21 ± 0,13
Carotenoides	4,26 ± 0,12
Impurezas	3,20 ± 0,24

Resultados expressos em Média ± Desvio Padrão, Base seca (média de, no mínimo, duas repetições analíticas, simultânea e independentes).

A caracterização do material cerídeo industrial, apresentado na Tabela 2 indica uma composição majoritária de lipídios (extrato hexânico) correspondendo a aproximadamente 84% desse material. Parte desses lipídios é resultante da adição de óleo vegetal como coadjuvante tecnológico do processo de fracionamento da fração insaponificável. Isso pode ser observado pelo perfil de ácidos graxos do material cerídeo (Tabela 3).

**Tabela 2** - Resultados das análises de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, carotenoides totais expressos como bixina do resíduo cerídeo industrial (g/100 g de amostra).

Análise	Resultado
Umidade	0,73 ± 0,06
Cinzas	6,20 ± 0,05
Cinzas insolúveis em HCl	0,48 ± 0,01
Proteínas	1,08 ± 0,03
Lipídeos (Extrato hexânico)	84,17 ± 4,62
Material Insaponificável	17,0 ± 0,04
Carotenóides totais <sup>1</sup>	1,48 ± 0,11
Norbixina	0,49 ± 0,01
Bixina	< 0,01

Resultados expressos em Média ± Desvio Padrão, Base seca (média de, no mínimo, duas repetições analíticas, simultânea e independentes). <sup>1</sup> Carotenóides totais expressos como bixina.

A composição de ácidos graxos das amostras de semente de urucum, material cerídeo industrial e de óleo vegetal que participa do processo industrial está apresentado na Tabela 3. O perfil cromatográfico de ácidos graxos desses materiais está apresentado na Figura 2. Observa-se



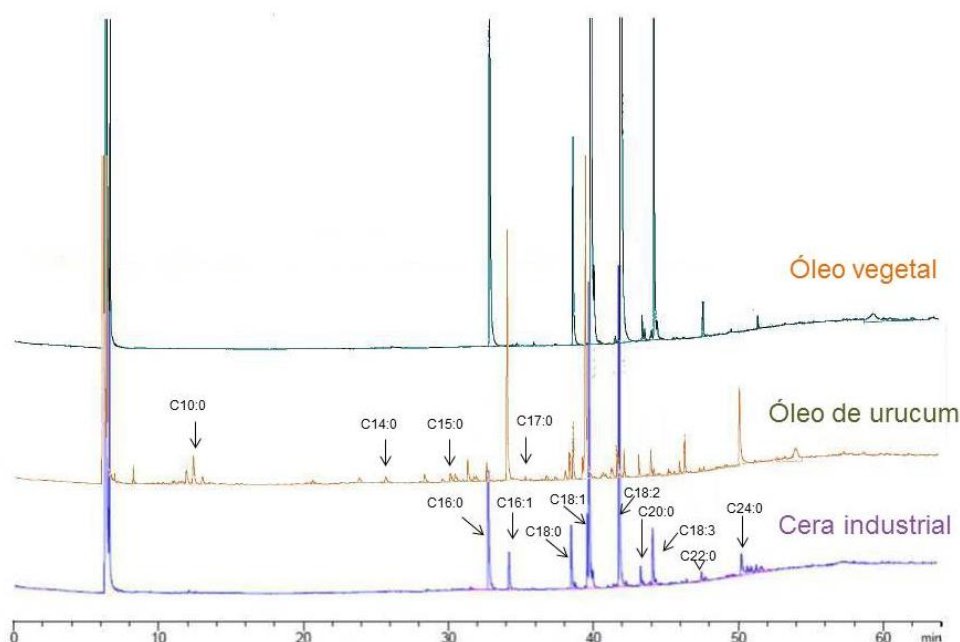
que existe uma contribuição significativa do óleo vegetal na composição de ácidos graxos do material cerídeo. Isso se deve pela característica do processo industrial que dá origem a esse material. No processo industrial há saponificação do óleo de urucum e os ácidos graxos migram para o corante produzido após o processo de extração com solução alcalina (Figura 1).

**Tabela 3.** Ácidos graxos das amostras de material cerídeo industrial, semente de urucum e de óleo vegetal.

Ácido Graxo	Material Cerídeo <sup>(1)</sup>		Óleo de urucum		Óleo vegetal <sup>(2)</sup>	
	%	g/100g <sup>(3)</sup>	%	Ref. <sup>(4)</sup>	%	Ref. <sup>(5)</sup>
C8:0 (Caprílico)				0,8		
C10:0 (Cáprico)			0,70	2,3		
C12:1 (Lauroléico)				4,6		
C14:0 (Mirístico)			0,77	2,2		0,27
C14:1 (Miristoléico)				0,4		
C15:0 (Pentadecílico)			0,35	0,3		
C16:0 (Palmítico)	10,31	10,13	16,12	19,3	10,21	19,90
C16:1 (Palmitoléico)	2,89	2,84	1,48	1,1		0,03
C17:0 (Margarico)			0,34	0,9	0,10	
C18:0 (Estearico)	5,41	5,32	1,75	13,0	4,04	1,87
C18:1 (Oléico)	26,18	25,71	31,50	15,5	26,06	43,14
C18:2 (Linoléico)	40,34	39,61	3,41	19,4	49,79	31,23
C18:3 ( $\alpha$ Linolênico)	4,71	4,63	2,21		6,00	1,47
C19:0 (Nonadecanóico)				1,4		
C20:0 (Araquídico)	1,56	1,53	1,28	3,1	0,65	0,79
C20:1 (Gadoléico)				1,1		0,50
C21:1 (Heinecosenoico)				1,0		
C22:0 (Behênico)	0,37	0,36	0,59	1,3	0,58	0,31
C20:5 (EPA)	5,16	5,07				
C22:1 (Erúcico)				0,3		0,04
C23:0 (Tricosanóico)				0,5		
C24:0 (Lignocérico)	1,25	1,22		1,8	0,22	0,46
C25:0 (Pentacosanóico)				0,7		
C26:0 (Cerótico)				0,9		
C28:0 (Montanílico)				0,7		

<sup>(1)</sup> Material Cerídeo Industrial; <sup>(2)</sup> Óleo Bruto de Arroz; <sup>(3)</sup> Massa de ácidos graxos por 100g do extrato hexânico do material cerídeo industrial, que correspondeu a 84,17g/100g desse material; <sup>(4)</sup> Matos *et al.* (1992); <sup>(5)</sup> Paulcar-Menacho *et al.* (2007).





**Figura 2.** Perfil cromatográfico de ácidos graxos do material cerídeo industrial, óleo vegetal e óleo de sementes de urucum.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos para as análises de ceras em sementes de urucum levantam as seguintes hipóteses: a) o conteúdo de ceras no arilo das sementes de urucum é muito baixo para ser determinado pelo método aplicado no presente estudo; b) o material cerídeo presente nas sementes de urucum é composto por substâncias que os métodos tradicionais não conseguem separar adequadamente. Diante das dificuldades de quantificação da cera a partir das sementes de urucum optou-se por adiantar o estudo do resíduo industrial, ou seja, avaliar a composição desse produto e, a partir de sua caracterização, identificar o que dificulta a separação do material cerídeo das sementes de urucum. Esse estudo encontra-se nessa fase, onde o material cerídeo obtido no processo industrial está sendo analisado para identificação de sua composição e assim poder estabelecer uma metodologia adequada para a análise desse material nas sementes de urucum.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida ao primeiro autor. Agradecem também à assistente Ercília Aparecida Henriques, pelas análises de ácidos graxos das



amostras do estudo e à pesquisadora Marta Gomes da Silva, pelas análises cromatográficas dos pigmentos do resíduo cerídeo industrial.

## 6.REFERÊNCIAS

CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; TAVARES, P. E. R.; MARTINS, A. L. M.; SPATTI, L. R. Concentração de bixina e lipídios em sementes de urucum da coleção do Instituto Agrônomo (IAC). *Bragantia*. v. 69, n. 3, p. 519-524, 2010.

CASTRO *et al.* Coleção plantar: Urucum. 2. ed. Brasília - DF: Embrapa, 2009. p. 10-61.

FABRI E.G. *et al.* Sistema de produção e panorama da cultura do urucum no Brasil. Anais da 3ª Reunião Nacional da Cadeia Produtiva do Urucum, Campinas - SP, 2016. Disponível em: <http://www.infobibos.com/anais/renau/Palestras/ElianeFabri.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2020.

FIRESTONE, D. (Ed.). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society. 6<sup>th</sup> ed., 3<sup>rd</sup> printing, Urbana: AOCS 2014, Ce 1a-13.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters. *Laboratory Practice*, v. 22, n. 6, p. 475-494, 1973.

HORWITZ, W. (Ed). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005.

PAUCAR-MENACHO, L. M.; SILVA, L. H.; SANTANA, A. S.; GONÇALVES, L. A. G. Refino de óleo de farelo de arroz (*Oryza sativa*, L.) em condições brandas para preservação do  $\gamma$ -orizanol. *Cienc. Tecnol. Aliment.* v. 27, p. 45-53, 2007.

MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. Ácidos graxos de algumas oleaginosas tropicais em ocorrência no Nordeste do Brasil. *Química Nova*, v. 15, n. 3, p. 181-186, 1992.

OLIVEIRA, J. V. S.; FABRI, E. G.; MARTINS, M. H.; AMARO, N. P. L.; CARVALHO, P. R. N. Avaliação agromorfológica e química dos acessos do banco de germoplasma de urucum (*Bixa orellana*, L.) do IAC. Anais do 14º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica - CIIC 2020. Disponível em: <https://www.ciic.cnptia.embrapa.br>.

SCOTTER, M.J.; WILSON, L. A.; APLLETON G. P.; CASTLE L. Analysis of annatto (*Bixa orellana* L.) food coloring formulations. 1. Determination of coloring components and colored thermal degradation products by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *J. Agr. Food Chem.* v. 46, n. 3, p.1031-1038, 1998.

VIEIRA, Thais Maria Ferreira de Souza. Obtenção de cera de cana-de-açúcar a partir de subproduto da indústria sucro-alcooleira: extração, purificação e caracterização. 2003. 139 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/256100>. Acesso em: 20 dez. 2020.