

## CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA DE BIXINA EXTRAÍDA DE SEMENTES DE URUCUM

**Vanessa Messias Dias, Leandro Procópio Alves, Egberto Munin, Viviane Pilla**

Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D - Universidade do Vale do Paraíba - Univap  
Av. Shishima Hifumi 2911 – Urbanova, 12244-000 – São José dos Campos, SP  
Fone: (12)3947 1128, Fax: (12) 3947 1149  
[van\\_ametista@yahoo.com.br](mailto:van_ametista@yahoo.com.br) [vpilla@univap.br](mailto:vpilla@univap.br)

**Resumo** - Corantes são usados desde as primeiras civilizações, por exemplo, em maquiagem tribal e na culinária, com o objetivo de melhorar a aparência de alimentos, tornando-os mais agradáveis visualmente. Na atualidade, os corantes sintéticos (por exemplo, eritrosina, ponceau e tartrazina) e naturais (urucum, páprica, cúrcuma, antocianina e carmim de cochonilha) se tornam ainda mais indispensáveis nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética. Entre os corantes naturais, o urucum é o mais utilizado na indústria brasileira. Os pigmentos do urucum são extraídos da camada externa das sementes e consistem, principalmente, de bixina na forma lipossolúvel, a qual seu percentual está diretamente relacionado à coloração vermelha da semente. Neste trabalho, apresentamos uma caracterização espectroscópica de Absorção e Fluorescência, em função da concentração de soluções de bixina extraídas com clorofórmio e acetona em concentrações entre  $(0.1-1.5) \times 10^{-4}$  mg/mL, e um colorífico comercial (à base de urucum) na concentração de  $1.5 \times 10^{-4}$  mg/mL.

**Palavras-chave:** Corantes Naturais, Urucum, Absorção e Fluorescência.

**Área do Conhecimento:** Engenharias

### Introdução

O urucuzeiro (*Bixa orellana* L.) cujo fruto é o urucum, é um arbusto tropical, que cresce espontaneamente e sua cultura ganha cada vez mais importância econômica, uma vez que do pericarpo da semente se extrai o corante natural (pigmento constituído por vários carotenóides, predominando a bixina, a qual representa mais de 80 % dos carotenóides presentes) e vem despertando interesse na indústria de produtos farmacêuticos, cosméticos e principalmente a de alimentos (ANGELUCCI 1988; COLLINS et al. 1995; FRENZ et al. 1988; TOCCHINI, MERCADANTE 2001), em fase de importância da ingestão de alimentos naturais. O urucum é uma das mais importantes fontes de corantes naturais empregadas pelas indústrias de alimentos, correspondendo em torno de 90 % do total de consumo de corantes naturais no Brasil e em torno de 70 % dos corantes naturais mundialmente empregados em alimentos (CONTO et al. 1991). A bixina, de coloração vermelha, é o pigmento presente em maior concentração no arilo da semente do urucum, sendo a principal substância responsável pelas características tintoriais dos corantes obtidos desta semente. A bixina é um carotenóide com elevada ação antioxidante, suas duplas ligações conjugadas atuam como um excelente capturador de radicais livres. Apresenta potencial importância para a saúde humana por ser absorvida facilmente pelo organismo, passando pela corrente sanguínea (LEVY e

RIVADENEIRA, 2000). Segundo a Resolução CNNPA 12/78 (1978) do Ministério da Saúde, o colorífico é definido como um produto constituído pela mistura de fubá com urucum em pó ou extrato oleoso de urucum adicionado ou não de sal e óleos comestíveis.

Neste trabalho, apresentamos uma caracterização óptica linear na região do visível, utilizando as técnicas de absorção e fluorescência, para caracterizar as soluções de bixina em diferentes concentrações, bem como definir o processo de extração da bixina neste trabalho, com o objetivo de entendimento dos processos ópticos e, posteriormente a utilização desses resultados em análises de controle de qualidade em coloríficos industrializados.

### Materiais e Métodos

Foram utilizadas sementes de *Bixa orellana* (urucum) obtidas na região de Jacareí (2007), e uma marca de colorífico comercial adquirido na região de São José dos Campos (2007).

Primeiramente, fez-se a abertura do fruto e extração do pericarpo que foi armazenado em um recipiente fechado. Após, fez-se a seleção das sementes graudas e limpeza já que a casca do fruto libera sujidades. Com as sementes escolhidas, fez-se a maceração e separação das sementes do extrato e pesagem da massa (0,0150 g) em uma balança digital Mettler Toledo – AG 245. Do pó de massa conhecida, fez-se a extração

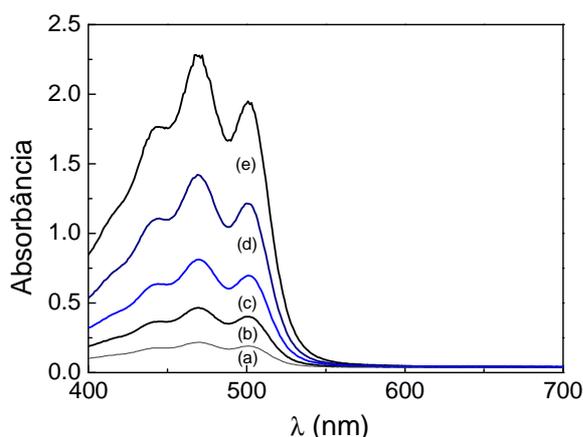
da bixina com acetona (0.5 mL) e clorofórmio (4.5 mL), ambos a temperatura ambiente. Em seguida, fez-se a filtragem, com a utilização de uma peneira contendo papel de filtro para evitar que qualquer resquício de massa do pericarpo passasse para a solução obtida. Para obter as amostras estudadas neste trabalho, com diferentes concentrações, volumes da amostra descrita anteriormente foram removidas com uma pipeta graduada (1.0 ml). O volume final de cada amostra obtida foi completada com clorofórmio para atingir 5 mL.

O colorífico comercial foi devidamente pesado (0.0150 g) e submetido a extração com acetona (0.5 mL) e clorofórmio (4.5 mL), ambos a temperatura ambiente. Após este procedimento, fez-se a separação via filtração, como descrito anteriormente. Para obter o volume final necessário, completou-se a amostra com clorofórmio (5 mL).

Os espectros de absorção no visível e fluorescência foram obtidos, em uma cubeta de vidro de caminho óptico de 1 cm, utilizando os equipamentos Carry 50 Bio Varian e Fluoro Max-2, respectivamente. O comprimento de onda de excitação em 440 nm foi utilizado para a aquisição dos espectros de fluorescências.

## Resultados e Discussões

Na Figura 1 apresentamos os espectros de absorbância das amostras analisadas neste trabalho em função do comprimento de onda ( $\lambda$ ), e cujas concentrações (C) são apresentadas na Tabela 1. Na Figura 2 os valores de absorbância para os valores  $\lambda = 440, 468$  e  $503$  nm.



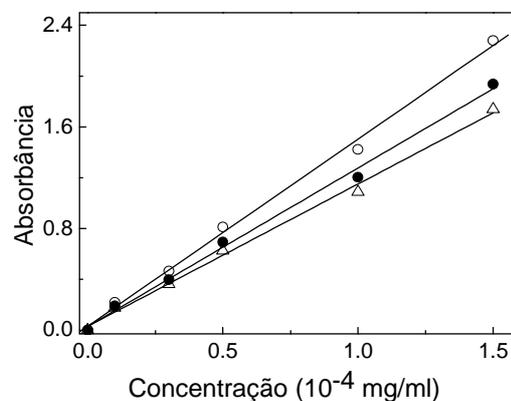
**Figura 1-** Espectros de absorção de soluções de bixina diluídas em acetona e clorofórmio (a) Bx01, (b) Bx02, (c) Bx03, (d) Bx04 e (e) Bx05 (Tabela 1). As soluções foram armazenadas em cubeta óptica de  $L = 1$  cm de espessura.

O coeficiente de absorção  $\alpha$  pode ser obtido por utilização da expressão de Beer-Lambert,  $I = I_0 \exp\{-\alpha L\}$ , para amostras na condição de baixa concentração, em que:  $I_0$  é a intensidade incidente no material e  $I$  a intensidade transmitida (CANTOR et al. 1980). Sendo a absorbância  $A = -\log I/I_0$ , da Figura 1 ou 2 é possível determinar  $\alpha$  utilizando a equação abaixo:

$$\alpha = \frac{A}{0.4343L} \quad (1)$$

**Tabela 1-** Amostras de urucum analisadas neste trabalho ( $\alpha$  foi calculado para 440 nm)

Amostra	C ( $10^{-4}$ mg/mL)	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\langle \lambda_{em} \rangle$
Bx 01	0.1	0.37	591.1
Bx 02	0.3	0.83	590.8
Bx 03	0.5	1.32	608.8
Bx 04	1.0	2.50	602.8
Bx 05	1.5	3.81	598.0
Colorífico (urucum + fubá)	1.5	1.02	578.4



**Figura 2-** Absorbância em função da concentração para soluções de urucum da Tabela 1, para  $\lambda = 440$  nm (triângulo),  $468$  nm (círculo aberto) e  $503$  nm (círculo fechado).

Na Tabela 1, apresentamos os valores de  $\alpha$  obtidos para as amostras analisadas em  $\lambda = 440$  nm. Em situações em que a amostra estudada apresenta um coeficiente de absorção não desprezível, é necessário para as análises, considerar a espessura efetiva ( $L_{eff}$ ) da amostra de coeficiente de absorção  $\alpha$ . Para se determinar  $L_{eff}$

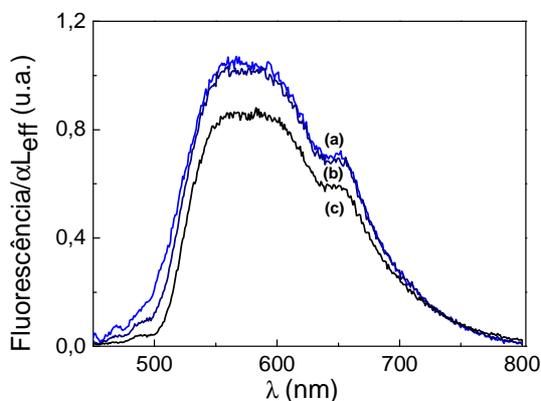
é necessário considerar a intensidade média ( $I_m$ ) ao longo da amostra.  $I_m$  é expressa por:

$$I_m = \frac{I}{L} \int_0^L e^{-\alpha z} dz \quad (2)$$

Sendo  $L_{\text{eff}} = LI_m/I$ , é possível escrever:

$$L_{\text{eff}} = (1 - e^{-\alpha L}) / \alpha \quad (3)$$

Na Figura 3 são apresentados os espectros de Fluorescência normalizados por  $\alpha L_{\text{eff}}$ . Observamos um pequeno decréscimo de intensidade de Fluorescência com o aumento da concentração das soluções de urucum estudadas.



**Figura 3-** Espectros de Fluorescência de soluções (a) Bx03, (b) Bx04 e (c) Bx05 (Comprimento de onda de excitação em 440 nm).

O valor do comprimento de onda médio de emissão  $\langle \lambda_{\text{em}} \rangle$ , pode ser obtido pela expressão:

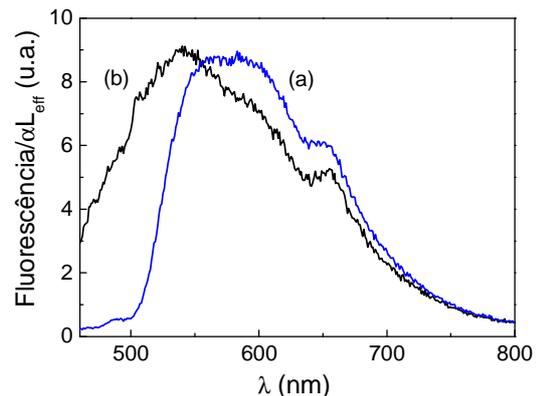
$$\langle \lambda_{\text{em}} \rangle = \frac{\int \lambda f(\lambda) d\lambda}{\int f(\lambda) d\lambda} \quad (4)$$

em que  $f(\lambda)$  é função que descreve a forma do espectro de emissão. Os valores de  $\langle \lambda_{\text{em}} \rangle$  obtidas para as soluções de Bixina analisadas neste trabalho são apresentados na Tabela 1. O valor médio para  $\langle \lambda_{\text{em}} \rangle$  das amostras Bx01 à Bx05 é  $(598 \pm 8)$  nm.

Na Figura 4 são apresentados os espectros de emissão da solução de Bixina (Bx04) e um colorífico industrializado (urucum e fubá). Os valores de  $\langle \lambda_{\text{em}} \rangle$  são apresentados na Tabela 1.

Observamos um deslocamento do comprimento de onda de emissão média obtidas do espectro de Fluorescência (Figura 4) de aproximadamente  $\sim 20$  nm. Este deslocamento da

emissão da solução de colorífico observado pode ser causado pela presença do fubá ou algum aditivo. Desta forma, possivelmente a caracterização óptica por Fluorescência poderia ser uma técnica simples de estudo de controle de qualidade de amostras de interesses na Engenharia de Alimentos. Estudos específicos em diversas coloríficos industrializados estão em atual estudo em nosso laboratório no grupo de Biotônica e Óptica Não linear na UniVap.



**Figura 4-** Espectros de Fluorescência de soluções (a) Bx04, (b) colorífico (Comprimento de onda de excitação em 440 nm).

## Conclusão

Neste trabalho aplicamos as técnicas ópticas de Absorção e Fluorescência para caracterização de Bixina extraído da semente do Urucum. Este estudo foi apresentado em função da concentração do corante natural (0.1-1.5) mg/ml. Em complementação analisamos uma amostra de colorífico industrial e observamos o deslocamento de  $\sim 20$  nm do comprimento de onda de emissão média com relação aos espectros de corante extraídos do urucum.

## Agradecimentos

Os autores são gratos ao CNPq e FAPESP pelo suporte financeiro do trabalho.

## Referências

ANGELUCCI, E. Corantes para alimentos: legislação brasileira. In: **Corantes para alimentos**. Campinas; ITAL – Instituto de tecnologia de alimentos, p.1-15, 1988.

CANTOR, C. R.; SCHIMMEL, P. R. **Biophysical Chemistry Part II: Techniques for the Study of Biological Structure and Function.** ed. San Francisco: W.H. Freeman & Co., 1980.

COLLINS P.; PLUMBY, J. Natural colors: stable future? **Food tech Europe.** v. 49, n.2, p. 64-70, 1995.

CONTO, W.L.do; OLIVEIRA, V.P.; CARVALHO, P.R.N.; GERMER, S.P.M. Estudos econômicos de alimentos processados. Campinas: IATL – Instituto de tecnologia de alimentos, 65p., 1991.

FREND, P.R.; WASHAN, C.J.; MAGGION, M. Natural color for use in foods. **Cereal foods world,** v.33, n.7, p.553-559, 1988.

LEVY, L.W.; RIVADENEIRA, D.M. Annatto. In: **Natural food colorants science and technology.** Chicago, DC: IFT Basic Symposium Series, p. 115-152, 2000.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A.Z. Extração e determinação, por CLAE, de Bixina e Norbixina em coloríficos. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos.** v. 21, n. 3, p. 310-313, 2001.

BRASIL. Leis, decretos, etc. – Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. **Diário Oficial da União,** Brasília, 24 Jul. 1978.