



EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA INSAPONIFICÁVEL DE SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana* L.)

João Paulo Ribeiro **Boemer**¹; Juliana Lima **Porto**²; Tatiana **Peterlini**³; Natani de Paula Lima **Amaro**⁴; Paulo Roberto Nogueira **Carvalho**⁵.

Nº 20216

RESUMO - Apesar das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) serem conhecidas principalmente pela produção de um dos corantes naturais mais importantes para as indústrias de alimentos, elas também são utilizadas na medicina doméstica como anti-inflamatório, hipotensivo, antibiótico, expectorante, antifebril, etc. Essas propriedades são explicadas pelas recentes descobertas de substâncias com atividade farmacológica nesses grãos. Substâncias como o geranilgeraniol, um diterpeno utilizado com sucesso na profilaxia de diversos tipos de câncer e os tocotrienóis, formas naturais da vitamina E com intensa atividade antioxidante, neuroprotetivas e redutora do colesterol. Essas substâncias já são extraídas desses grãos e comercializadas pela indústria farmacêutica. A extração do geranilgeraniol, dos tocotrienóis e de outras substâncias como a “fração azul”, das sementes de urucum, é realizada a partir do material insaponificável contido nesses grãos. Esse estudo indicou uma variação de 1,90 a 3,80g/100g de fração insaponificável nas sementes de urucum utilizadas nesse projeto. A análise de variância indicou que não há correlação entre as concentrações de pigmentos e de fração insaponificável, mas que existe correlação positiva, significativa ao nível de 5%, para a concentração de lipídios e de fração insaponificável. A caracterização do material insaponificável indicou uma concentração de pigmentos próxima a 2 g/100g, uma concentração de tocotrienóis totais superior a 8 g/100g e uma concentração de geranilgeraniol que variou entre 5,9 e 9,2 g/100g. Um estudo da viscosidade do resíduo da fração insaponificável após a separação por destilação molecular dos principais componentes fitoterápicos mostrou um comportamento diferenciado em relação a temperatura estudada, seguindo a lei das potências até 60°C e um comportamento reológico Newtoniano à temperaturas superior a 70°C.

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

¹ Autor, Bolsista CNPq (PIBIT): Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA – UNICAMP, Campinas – SP; jpboemer@hotmail.com.

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

³ Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIT): Graduação em Tecnologia de Processos Químicos – FATEC, 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 (*Bixa orellana* L.) are mainly known for the production of one of the most important natural coloring for the food industry. However, they have always been used in traditional medicine as anti-inflammatory, hypotensive, antibiotic, expectorant and antifebrile. These properties can be explained by the recent discoveries of substances with pharmacological activity in these grains. Substances such as geranylgeraniol, a diterpene used successfully in the prophylaxis of various types of cancer and tocotrienols, natural forms of vitamin E with intense antioxidant activity, are already extracted from these grains and marketed by the pharmaceutical industry. The extraction of geranylgeraniol, tocotrienols and other substances such as the “blue fraction”, from annatto seeds, is carried out from the unsaponifiable material contained in grains. That study indicated a variation of 1.90 – 3.80 g/100g of unsaponifiable fraction contained in seeds; demonstrated a correlation for the concentration of lipids and unsaponifiable material; indicated a pigment concentration of a 2 g/100g; tocotrienols concentration greater than 8 g/100g and geranylgeraniol concentration varied 5,9 - 9,2 g/100g. The study of viscosity showed a variable behavior according to temperature: following the power law up to 60°C and above 70°C a Newtonian rheological behavior.

Keywords: Annatto; *Bixa orellana* L.; Unsaponifiable 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 nas sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) como: o geranylgeraniol, os tocotrienóis e uma fração de cor azul, separados do material insaponificável do óleo de urucum. Para isso as atividades foram divididas em projetos que contemplam as diferentes etapas necessárias ao conhecimento de produtos e processos abrangidos essas tecnologias. A Figura 1 indica os projetos que participaram desses estudos (em destaque, em azul, a contribuição do presente projeto).

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 de Dracena - SP, 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 estabelecimento das condições para a separação de uma fração de coloração azul, cuja hipótese é a presença de derivados do azuleno (um importante anti-inflamatório de origem natural) presente na fração insaponificável do óleo de urucum [**Separação da fração azul do óleo de sementes de urucum (*Bixa orellana L.*)**]; e) 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.*)**].

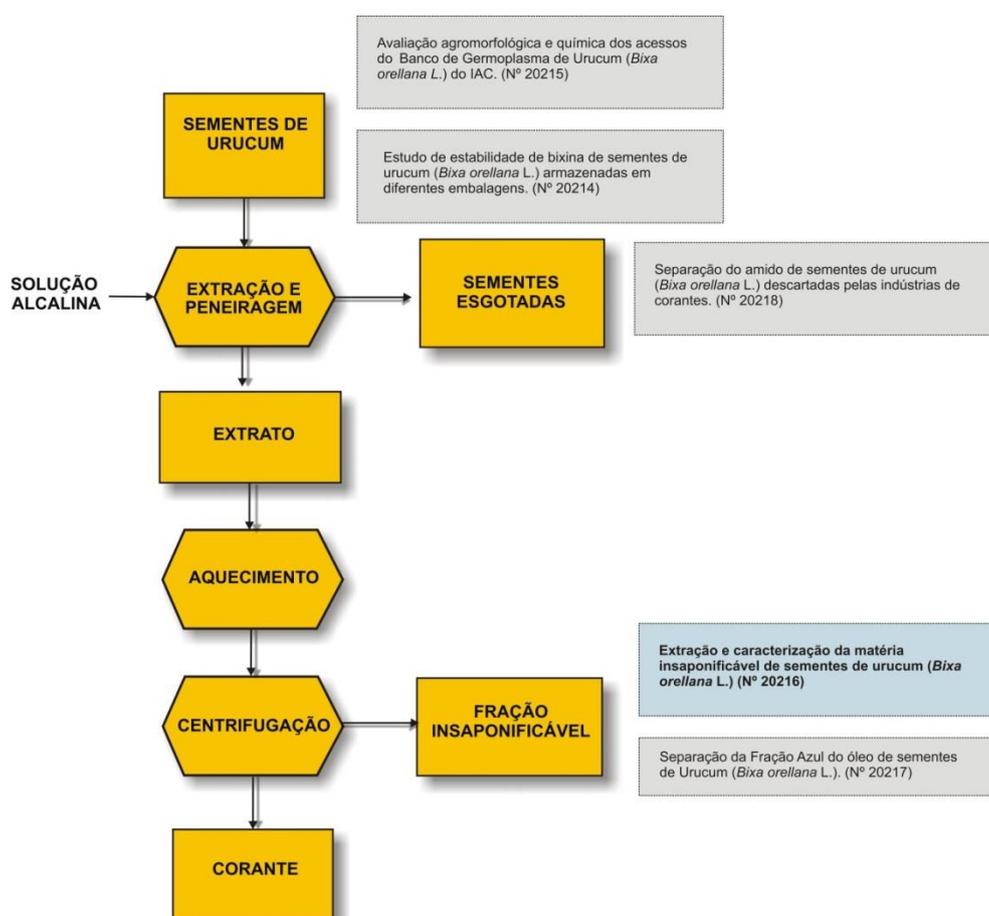


Figura 1. Localização da contribuição dos diferentes estudos no processo de produção da fração insaponificável do óleo de urucum, matéria-prima para a recuperação de fitoterápicos do urucum. Artigos apresentados no 14º Congresso de Iniciação Científica (CIIC 2020).



O urucum (*Bixa orellana* L.) é considerado uma planta nativa brasileira que tem sua origem atribuída às populações da Amazônia brasileira. Atualmente o Brasil é o maior produtor mundial de sementes de urucum com uma safra superior a 14.000 toneladas por ano. (Moreira *et al.*, 2015)

Com essa vasta produção em território nacional surge, cada vez mais, estudos em relação a sua composição. Um artigo publicado por Carvalho *et al.* (1991) apresentou a composição da semente de urucum e do arilo que a envolve (Tabela 1).

Tabela 1. Composição da semente e do arilo do urucum.

Composição	Semente ¹	Arilo
Umidade (g/100g)	9,8	3,5
Cinzas (g/100g)	4,6	2,0
Proteína bruta (%N x 6,25) (g/100g)	10,8	2,5
Extrato etéreo (g/100g)	4,8	30,0
Carboidratos totais (g/100g)	70,0	32,0
Bixina ² (g/100g)		30,0

¹ Semente sem arilo; ² Carotenoides totais expressos como bixina.

Os pigmentos encontrados nos grãos de urucum pertencem a uma classe de substâncias denominadas carotenoides. Os carotenoides foram reconhecidos como compostos químicos por volta de 1830 com a separação dos pigmentos da cenoura. A bixina é o carotenoide presente em maior concentração na semente de urucum, alcançando mais de 80% de todos os pigmentos presentes. Além da bixina, a semente ainda contém uma fração lipídica rica em substâncias com interesse fitoterápico como os tocotrienóis e o geranylgeraniol. Os tocotrienóis pertencem ao grupo das vitaminas lipossolúveis conhecidos como Vitamina E. O geranylgeraniol é um diterpeno que desempenha diversas atividades biológicas, participando da biossíntese das Vitaminas E e K.

Estudo publicado por Morais *et al.* (2005) indica que populações indígenas usam tradicionalmente o urucum contra a queimadura solar, proteção contra insetos e no combate de diferentes enfermidades. Na medicina doméstica as sementes de urucum têm sido utilizadas como: laxante, cardiotônico, hipotensivo, expectorante, antibiótico, anti-inflamatório, antifebril, entre outras. (Monzonte *et al.* 2013; Capella *et al.*, 2016; Ulbricht *et al.*, 2012; Sangvikar *et al.*, 2015; Chandel *et al.*, 2014; Yong *et al.*, 2013; Vilar *et al.*, 2014; Pérez e Sánchez, 2010).

Todos esses estudos indicam que há nas sementes de urucum substâncias que com atividades fitoterápicas. A busca por essas substâncias ou grupos de substâncias para uso medicinal tem sido alvos de diversos artigos e patentes nos últimos anos. Recentemente uma pomada com base em óleo de urucum destinada à cicatrização de feridas foi patenteada (Reis,



2010). A tecnologia para a separação de geranilgeraniol e tocotrienóis para utilização como suplemento nutricional foi objeto de patentes em vários países (Tan & Foley, 2002; Tan, 2008), demonstrando cada vez mais a importância de se conhecer mais sobre essas substâncias nas sementes de urucum.

A concentração total de geranilgeraniol é descrita como superior a 30% no material insaponificável do óleo de sementes de urucum e em torno de 1% nas sementes secas (Jondiko & Pattenden, 1989; Barbosa Filho, 2006). No óleo de urucum, os tocotrienóis são formados predominantemente pelas estereoformas gama e delta-tocotrienol, com este último chegando a uma concentração superior a 90% dos isômeros existentes. A literatura cita uma concentração de tocotrienóis em sementes de urucum próximo a 140 mg/100g (Frega *et al.*, 1998).

A grande maioria desses nutrientes está presente na fração lipídica das sementes de urucum, por isso é importante a caracterização e conhecimento da concentração de lipídeos desses grãos. Em um estudo com 25 acessos de urucum da coleção do Instituto Agrônomo (IAC), instalada no Polo Regional Centro Norte em Pindorama (SP), Carvalho *et al.* (2010) observaram uma variação do teor de lipídios das sementes de 2 a 4% (em base seca). Matos *et al.* (1992) caracterizaram os ácidos graxos de sementes de urucum. Os autores citam um rendimento da extração de óleo de 2,3% e identificaram a predominância dos ácidos graxos Linoléico (19,4%), Palmítico (19,3%), Oléico (15,5%) e Esteárico (13,0%).

O óleo do urucum é pode ser separado em duas frações: a primeira saponificável, composta por substâncias como os mono, di e triacilgliceróis, e os fosfo e glicolipídios e uma outra parte formada por substâncias insaponificáveis, como carotenóides, terpenos e os tocotrienóis.

A extração do material insaponificável das sementes de urucum envolve as seguintes etapas: extração dos pigmentos por soluções alcalinas que saponificam 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.

Esse estudo buscou informações sobre a concentração de fração insaponificável em sementes de diferentes acessos de urucum e sua caracterização quanto a concentração de pigmentos, Alcalinidade, pH, Densidade, Geranilgeraniol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol e tocotrienóis totais. Foi analisada também a viscosidade do resíduo da fração insaponificável após a separação por destilação molecular dos principais componentes fitoterápicos. Essa informação é importante para projetos de equipamentos destinados ao fracionamento da fração insaponificável.



2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

Neste estudo foram analisados dois lotes de material insaponificável do óleo de sementes de urucum (identificados como amostra 1 e 2), obtidos industrialmente e cedidos por uma empresa de corantes de urucum da região de Americana (SP), que forneceu ainda o resíduo da separação das frações fitoterápicas por destilação molecular. Foram utilizadas também três amostras de sementes de urucum provenientes do banco de germoplasma do Instituto Agrônomo, localizado no município de Pindorama-SP, escolhidas ao acaso e quatro amostras de sementes de urucum de plantações consolidadas da região de Dracena-SP, reconhecida como principal polo produtor desses grãos do Estado de São Paulo.

2.2 Métodos

2.2.1 Umidade

A umidade das sementes de urucum foi determinada por gravimetria, pela eliminação da água por aquecimento em estufa a temperatura $110^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, até peso constante, conforme descrito por Bezerra *et al.* (2019). A umidade foi calculada pela diferença entre as massas inicial e final. A umidade da matéria insaponificável foi determinada também por gravimetria, segundo o método descrito por Horwitz (2006).

2.2.2 Carotenóides totais expressos como bixina

Para análise dos carotenóides totais da fração insaponificável foi baseada na diluição com clorofórmio e leitura da absorbância a 470 nm. A concentração de carotenoides totais expressos como bixina foi realizada utilizando um coeficiente de absorção igual a 3230 (Reith e Gielen, 1971).

A análise de bixina nas sementes de urucum foi realizada pela determinação espectrofotométrica do sal de norbixina obtido pela extração dos pigmentos das sementes com soluções alcalinas, conforme descrito por Carvalho *et al.*, 2010.

2.2.3 pH

O pH da fração insaponificável foi obtido pela medida direta utilizando um pHmetro previamente calibrado e aferido.

2.2.4 Densidade

A densidade do óleo foi obtida pela medida da massa de material insaponificável presente em um balão volumétrico de 100ml.



2.2.5 Geranilgeraniol e tocotrienol

A quantificação de geranilgeraniol e tocotrienol foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência. A separação foi realizada em uma coluna de fase reversa (C₁₈) com 15cm de comprimento por 4mm de diâmetro interno e partículas de 5µm. A quantificação foi feita com um detector de UV-visível a 210 nm, utilizando padronização externa. A fase móvel foi composta por uma mistura isocrática de metanol e acetato de amônia 50mM (90:10 v/v) a um fluxo de 1mL/minuto (Silva *et al.*, 2010).

2.2.6 Material insaponificável

O método de análise foi baseado na saponificação da fração lipídica, extrações consecutivas com éter de petróleo, eliminação do solvente por evaporação e quantificação da massa resultante. Os ácidos graxos livres ainda presentes na fração insaponificável foram quantificados titulação com solução alcalina e subtraídos da massa final. (Horwitz, 2006).

2.2.7 Viscosidade

O estudo reológico do resíduo da destilação molecular da fração insaponificável foi realizado em quatro temperaturas 50, 60, 70, 80°C, com variação de taxa de deformação de 0 a 300 s⁻¹. O equipamento utilizado foi o reômetro R/S + Rheometer SST, SN 7023123 fabricado pela Brookfield Eng. Labs Inc. As análises foram conduzidas utilizando cilindros concêntricos CCT-45.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises de umidade, bixina, lipídios e material insaponificável das amostras de sementes de urucum utilizadas neste estudo. As amostras de 1 a 3 são oriundas do banco de germoplasma do Instituto Agrônomo e as amostras numeradas de 4 a 7 são provenientes de plantações consolidadas da região de Dracena-SP.

Os valores de bixina e lipídios ficaram dentro das variações observadas por Dequigiovani *et al.* (2017) no estudo de 62 amostras de sementes de acessos do banco de germoplasma de urucum do IAC, instalado no município de Pindorama – SP. Naquele estudo os autores encontraram concentrações de lipídios entre 2,14 a 7,11 g/100g e de carotenoides totais expressos em bixina de 2,00 a 7,31 g/100g. A concentração de umidade também ficou dentro dos valores observados pelos mesmos autores, exceção feita para a amostra 2, cuja umidade de 2,78g/100g indica que o ponto de coleta ou o processo de secagem pode ter sido superior ao ideal. Não há dados na literatura para a concentração de fração insaponificável em sementes de urucum. Nesse



estudo a concentração de fração insaponificável das sementes de urucum utilizadas no estudo variou entre 1,90 e 5,35g/100g (m/m). Observou-se também que as amostras provenientes de plantações consolidadas apresentaram uma concentração de fração insaponificável inferior à maioria das amostras provenientes do banco de germoplasma.

Tabela 2. Resultados das análises de bixina, umidade, lipídios e fração insaponificável das sementes de urucum de utilizadas neste estudo.

Amostras	Umidade (g/100g) ¹	T ²	Bixina ^{1;3;4} (g/100g)	T ²	Lipídios ^{1;3} (g/100g)	T ²	Material Insaponificável ^{1;3} (g/100g)	T ²
1	8,13 (0,24)	e	2,57 (0,12)	e	4,03 (0,29)	ab	2,80 (0,11)	bc
2	13,11 (0,18)	b	4,36 (0,15)	cd	4,36 (0,23)	ab	3,80 (0,48)	a
3	11,78 (0,11)	c	3,58 (0,04)	de	4,65 (0,17)	ab	3,51 (0,16)	ab
4	13,17 (0,06)	b	7,47 (0,21)	a	5,03 (0,29)	a	1,90 (0,13)	c
5	9,48 (0,02)	d	5,77 (0,56)	b	3,61 (0,01)	ab	2,00 (0,12)	c
6	14,12 (0,07)	a	4,84 (0,04)	bc	4,43 (0,63)	ab	2,71 (0,29)	bc
7	13,28 (0,03)	b	5,82 (0,23)	b	3,31 (0,73)	b	2,06 (0,11)	c

¹Média de, no mínimo, duas repetições analíticas, simultânea e independentes e (estimativa de desvio padrão); ²Tukey ($p \leq 95\%$): as médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não são significativamente diferentes; ³Resultados em base seca. ⁴Bixina = carotenóides totais expressas como bixina.

A Tabela 3 apresenta os resultados das análises de caracterização da matéria insaponificável utilizadas nesse 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 a apresenta 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.

O estudo reológico resíduo da destilação molecular da fração insaponificável indicou que nas temperaturas de 50°C e 60°C a amostra seguiu o modelo da Lei da Potência, sendo possível analisá-la em três diferentes taxas de deformação (50, 100 e 250 s⁻¹), conforme apresentado na Tabela 4. Nas temperaturas de 70°C e 80°C a fração insaponificável apresentou um comportamento reológico *Newtoniano*, como pode ser observado na Tabela 5. As Figuras 2 a 3



apresentam o comportamento reológico da fração insaponificável nas temperaturas de 50°C e 80°C.

Tabela 3. Resultados das análises de caracterização da matéria insaponificável utilizadas nesse estudo⁶.

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, simultânea e independentes (estimativa de desvio padrão); ²Bixina = carotenóides totais expressas como bixina. ³Tukey (p ≤ 95%): as médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não são significativamente diferentes.

Tabela 4. Viscosidade aparente do resíduo da destilação molecular da fração insaponificável a 50°C e 60°C.

Taxa de deformação (s ⁻¹)	Temperatura	
	50°C	60°C
50	33,14 (0,33)	23,48 (0,07)
100	28,67 (0,27)	20,71 (0,09)
250	23,68 (0,21)	17,55 (0,20)

Tabela 5. Viscosidade aparente do resíduo da destilação molecular da fração insaponificável a 70°C e 80°C.

Tipo de curva	Temperatura	
	70°C	80°C
Curva ascendente	14,17 (0,12)	12,77 (0,31)
Curva descendente	13,30 (0,17)	11,87 (0,21)

⁶ Essa caracterização foi conduzida junto com o projeto “Separação da “Fração Azul” do óleo de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)” e o resultado está apresentado em ambos os artigos.

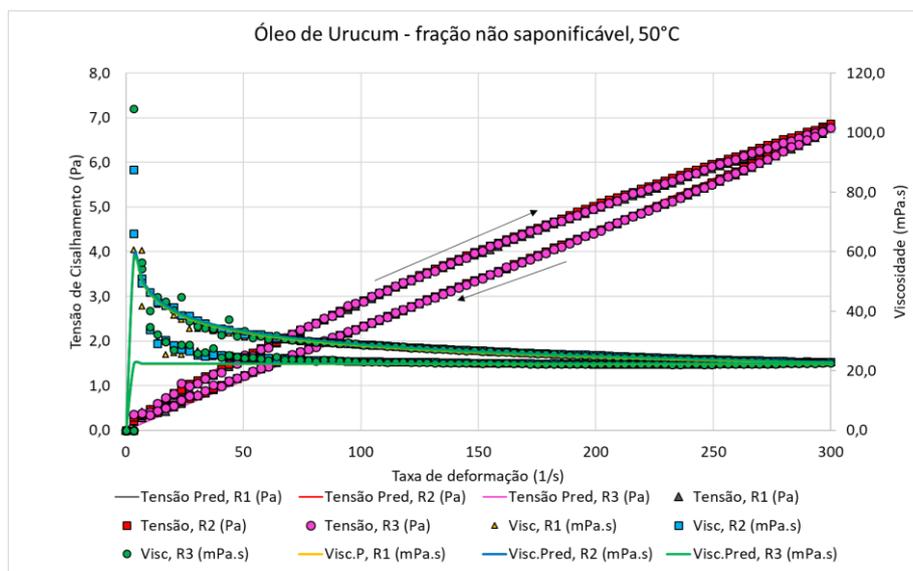


Figura 2. Comportamento reológico da fração insaponificável a 50°C.

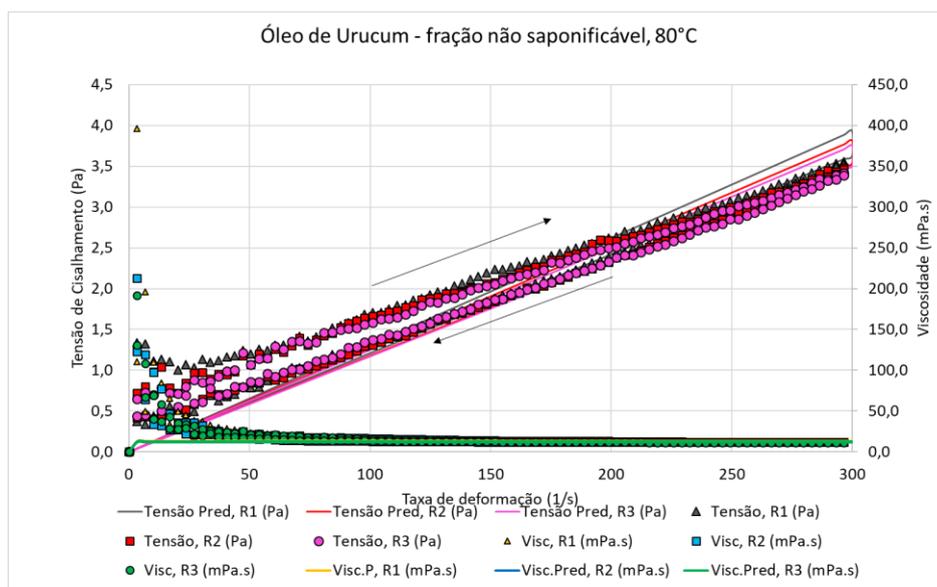


Figura 3. Comportamento reológico da fração insaponificável a 80°C.

4 CONCLUSÃO

Esse estudo indicou pode ocorrer grandes variações na concentração de fração insaponificável nas sementes de urucum, o que torna importante pesquisas por variedades ricas nessas frações, tendo em vista tratar-se de matéria prima para a extração de componentes fitoterápicos importantes. A análise de variância indicou que existe correlação positiva para a concentração de lipídios e de fração insaponificável. A caracterização do material insaponificável



indicou uma concentração de tocotrienóis totais superior a 8g/100g e uma concentração de geranilgeraniol que variou entre 5,86 e 9,15g/100g. A viscosidade do resíduo da destilação molecular da fração insaponificável se comportou de forma diferente em relação à temperatura estudada, seguindo a lei das potências até 60°C e um comportamento reológico Newtoniano à temperaturas superior a 70°C.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida ao primeiro autor. Agradecem também à pesquisadora Maria Isabel Berto, da área de Engenharia de Processos do Centro de Tecnologia de Laticínios do Itai, pelas análises de viscosidade do resíduo da destilação molecular da fração insaponificável do óleo de sementes de urucum.

6 REFERÊNCIAS

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.; CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B. Estudo da composição de sementes, cachopas, folhas e galhos do urucum (*Bixa orellana* L.) In: **Anais do Seminário de Corantes Naturais para Alimentos – I Simpósio Internacional de Urucum**. ITAL, Campinas, 1991, 321p.

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.

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.

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.apta regional.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.

FREGA, N.; MOZZON, M.; BOCCI, F. Identification and estimation of tocotrienols in the annatto lipid fraction by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **JAOCs**. v. 75, n. 12, p. 1723-1727, 1998

HORWITZ, W. (Ed.) Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005. Current Through Revision 1, 2006.



- JONDIKO, I. J.; PATTENDEN, G. Terpenoids and an apocarotenoid from seeds of *Bixa orellana*. **Phytochem.** v. 28, p. 3159-3162, 1989.
- MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. Ácidos graxos de algumas oleaginosas tropicais em ocorrência no nordeste brasileiro. **Química Nova.** v. 15, n. 3, p. 181-185, 1992.
- 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.
- MOREIRA, P. A.; LINS, J.; DEQUIGIOVANNI, G.; VEASEY, E. A.; CLEMENT, C. R. The domestication of annatto (*Bixa orellana*) from *Bixa urucurana* in Amazonia. **Econ. Bot.** 2015. DOI: 10.1007/s12231-015-9304-0.
- 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.
- REITH, J.F.; GIELEN, J.W. Properties of bixin and norbixin and the composition of annatto extracts. **J. Food Sci.** v. 36, n. 6, p. 861-864, 1971.
- 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.
- SILVA, M. G.; LUIZ, F. A.; ROCHA, F. W.; LEAL, R. N.; CARVALHO, P. R. N. Validação de método analítico de determinação de geranylgeraniol em sementes de urucum. In: **Anais da 2º Reunião Nacional da Cadeia Produtiva do Urucum.** Campinas, SP, 2010. Disponível em www.ourucum.com.br/2-renau.
- TAN, B. **Annatto Extract compositions, including geranylgeraniol and methods of use.** US Patent N° 2008/0031985 A1, 2008, 29p.
- TAN, B.; FOLEY, J. **Tocotrienols and geranylgeraniol from *Bixa orellana* by products.** US Patent N° 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.
- 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.
- 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.