

Concentração de lípidos, carotenoides totais, geranylgeraniol e tocotrienol em diferentes acessos de urucum (*Bixa orellana* L.) da coleção do Instituto Agronômico (IAC).

Paulo Roberto Nogueira CARVALHO⁽¹⁾; Marta Gomes DA SILVA⁽¹⁾; Paulo Eduardo da Rocha TAVARES⁽¹⁾; Eliane Gomes FABRI⁽²⁾; Antonio Lucio Melo MARTINS⁽³⁾.

Resumo

As sementes de urucum tem grande importância para as indústrias de alimentos pela presença do carotenoide bixina, muito utilizado como um corante natural. Essas mesmas sementes vêm adquirindo notoriedade por conter em seu arilo, outras substâncias de importância para a saúde do homem, como geranylgeraniol e tocotrienóis. Algumas empresas já utilizam as sementes de urucum como matéria-prima para a extração de geranylgeraniol e tocotrienol. Contudo, ainda não há artigos científicos que apresentem a variação da concentração dessas substâncias nas diferentes variedades de urucum. O presente estudo avaliou a concentração de lípidos, carotenoides totais expressos como bixina, geranylgeraniol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol e tocotrienóis totais em 84 amostras (62 acessos) da coleção de urucum do IAC, localizada no Polo Regional Centro Norte, da Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio, em Pindorama-SP. As concentrações por 100g de sementes (massa seca - MS) de lípidos, carotenoides totais expressos como bixina, geranylgeraniol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol e tocotrienóis totais variaram, respectivamente: $2,05 \pm 0,07$ g (100g MS)⁻¹ a $7,11 \pm 0,05$ g (100g MS)⁻¹, de $2,00 \pm 0,09$ g (100g MS)⁻¹ a $7,31 \pm 0,16$ g (100g MS)⁻¹ de $0,49 \pm 0,05$ g (100g MS)⁻¹ a $2,62 \pm 0,32$ g (100g MS)⁻¹, $0,05 \pm 0,02$ g (100g MS)⁻¹ a $0,22 \pm 0,02$ g (100g MS)⁻¹, $0,20 \pm 0,01$ g (100g MS)⁻¹ a $1,20 \pm 0,09$ g (100g MS)⁻¹ e de $0,25 \pm 0,02$ g (100g MS)⁻¹ a $1,41 \pm 0,11$ g (100g MS)⁻¹.

Palavras-chave: Urucum, Lípidos, Bixina, Geranylgeraniol, Tocotrienol.

Lipids, bixin, geranylgeraniol and tocotrienol content in annatto (*Bixa orellana* L.) seeds from collection of the Instituto Agronômico (IAC).

Abstract

The annatto seeds have a great importance for the food industry due to the presence of the bixin carotenoid, widely used as a natural dye. Those seeds are acquiring notoriety by containing in this aryl other important substances for human health, such geranylgeraniol and tocotrienols. Some industries already use annatto seeds as a geranylgeraniol and tocotrienols source. However, there are still no scientific studies that present the variations of the concentration of those substances in different annatto varieties. This study evaluated lipids, total carotenoids expressed in bixin, geranylgeraniol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol and total tocotrienol from seeds of 84 annatto samples (62 accesses) of the IAC collection of the North Center Regional Pole, in Pindorama-SP. The concentrations (dry weight – DW) of lipids, total carotenoids expressed in bixin, geranylgeraniol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol and total tocotrienol varied from $2,05 \pm 0,07$ g (100g DW)⁻¹ a $7,11 \pm 0,05$ g (100g DW)⁻¹, de $2,00 \pm 0,09$ g (100g DW)⁻¹ a $7,31 \pm 0,16$ g (100g DW)⁻¹ de $0,49 \pm 0,05$ g (100g DW)⁻¹ a $2,62 \pm 0,32$ g (100g DW)⁻¹, $0,05 \pm 0,02$ g (100g DW)⁻¹ a $0,22 \pm 0,02$ g (100g DW)⁻¹, $0,20 \pm 0,01$ g (100g DW)⁻¹ a $1,20 \pm 0,09$ g (100g DW)⁻¹ e de $0,25 \pm 0,02$ g (100g DW)⁻¹ a $1,41 \pm 0,11$ g (100g DW)⁻¹, respectively.

Key Words: Annatto, Lipids, Bixin, Geranylgeraniol, Tocotrienol.

⁽¹⁾ Instituto de Tecnologia de Alimentos, Av. Brasil, 2880, 13073-178, Campinas (SP), E-mail: carvalho@ital.sp.gov.br, E-mail: martags@ital.sp.gov.br, E-mail: ptavares@ital.sp.gov.br; ⁽²⁾ Instituto Agronômico, Campinas (SP), E-mail: efabri@iac.sp.gov.br; ⁽³⁾ Polo Regional Centro Norte - APTA, Pindorama (SP), E-mail: lmartins@apta.sp.gov.br.

1. INTRODUÇÃO

O urucuzeiro é um arbusto de crescimento rápido chegando a 6 metros de altura, robusto e com coloração de seus frutos dependendo da variedade (PINEDA, 2003). Os frutos ou cachopas são cápsulas de duas partes, que contém de 30 a 45 sementes. Essas cachopas podem chegar a até 5 cm de largura, com a presença ou ausência de “pelos” e sua coloração pode variar do verde ao vermelho intenso. O cultivo perene tem boas perspectivas em programas agrícolas, principalmente destinados a pequenos e médios produtores (MAZZANI, 2000).

Apesar de suas sementes serem utilizadas historicamente para a obtenção de um corante alimentar, recentemente vem adquirindo notoriedade por conter, também em seu arilo, outras substâncias de importância para a saúde do homem, como o geranilgeraniol e os tocotrienóis.

O óleo das sementes de urucum, onde geralmente essas substâncias estão presentes, representa cerca de 2 a 7% da massa das sementes e é composto principalmente pelos ácidos graxos linolênico (19,5%), palmítico (15,5%), oléico (8,1%) e esteárico (7,1%) (SILVA et al., 2013). CARVALHO et al. (2010) encontraram em sementes de 25 acessos de urucum, concentrações de lípides que variaram de 1,97 a 3,98 g(100g MS)⁻¹. Outros artigos citam a concentração de lípides em sementes de urucum igual a 2,3 g(100g)⁻¹ (MATOS et al., 1992) e 4,8 g(100g MS)⁻¹ (SILVA et al., 2013).

O principal carotenóide da semente de urucum é a cis-bixina (metil, hidrogênio 9'-cis-6,6'- diapocaroteno-6,6'-dioato) que é um éster monometílico de um ácido dicarboxílico e compreende mais de 80% dos carotenoides totais presentes nas sementes (PRESTON & RICKARD, 1980; CARVALHO et al., 1993). A concentração desse carotenóide em sementes de urucum é extensamente apresentada na literatura. CARVALHO et al. (2010) estudando sementes de 25 acessos de urucum encontraram concentrações de carotenoides totais expressos como bixina que variaram de 3,12 g (100g MS)⁻¹ a 6,26 g (100g MS)⁻¹.

O termo geranilgeraniol tem sido utilizado para descrever um álcool diterpeno de cadeia linear e ocorrência natural. Sua fórmula estrutural pode ser descrita como: all trans-3, 7, 11, 15-tetrametilhexadecatetra-2, 6, 10, 14-em-1-ol.

A presença de geranilgeraniol em sementes de urucum foi inicialmente citada por CRAVEIRO et al. (1989). JONDIKO e PATTENDEN (1989) estabeleceram a concentração de geranilgeraniol nas sementes de urucum em aproximadamente 1 g (100g)⁻¹ e MERCADANTE et al. (1999) cita a presença de geranilgeraniol esterificado com carotenoides. O geranilgeraniol é conhecido como um intermediário de biossínteses importantes, como a da vitamina K, dos tocoferóis, de diversos hormônios e dos carotenoides. O geranilgeraniol tem sido citado na literatura como um importante aliado no tratamento de diversos tipos de câncer (MYERS et al., 1997; MCGUIRE e SEBTI, 1997; BURKE, et al., 1997; FISHER et al., 1999; SEBTI e MCGUIRE, 2000; VITARTEN et al., 2002; VASCONCELOS, et al., 2004; ESPINDOLA, 2005).

Os tocotrienóis são substâncias que apresentam forte atividade antioxidante e juntas com os tocoferóis são conhecidas como membros da família da vitamina E. Essas substâncias são constituídas por estruturas de natureza isoprênica, com um anel cromanol e uma cadeia lateral com 16 átomos de carbono. Os tocotrienóis são encontrados nas sementes de urucum principalmente na forma de γ e δ -tocotrienol, o que torna essa matéria-prima de grande interesse para as indústrias de fármacos. Segundo TAN e FOLEY (2002) urucum é uma das raras plantas que contem tocotrienóis em uma proporção muito superior aos tocoferóis. FREGA et al. (1998) descreve a presença de tocotrienóis nas sementes de urucum em concentrações próxima a 0,14 g (100g)⁻¹. Os tocotrienóis possuem propriedades neuroprotetiva, anti-câncer e redutoras do colesterol (SEM, et al., 2007).

Por tudo isso, as sementes de urucum tem se apresentado como uma excelente matéria-

prima não só pelo seu pigmento, mas pela presença de substâncias como o geranilgeraniol e os tocotrienóis. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a concentração de lípidos, carotenoides totais expressos como bixina,

geranilgeraniol e tocotrienóis em 84 amostras (62 acessos) da coleção de urucum do IAC. Este é o primeiro artigo científico a apresentar a variação de geranilgeraniol e tocotrienóis entre diferentes acessos de urucum.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

As sementes de urucum utilizadas nesse estudo foram provenientes da safra de 2011, colhidas no banco de germoplasma do Instituto Agrônomo (IAC), localizado no Polo Regional Centro Norte da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, no município de Pindorama, SP. Nesse estudo foram avaliadas 84 amostras que representam 62 acessos. Desses acessos, 22 foram colhidos em duas diferentes áreas da coleção: uma com plantas com mais de 30 anos e outra com plantas com apenas 3 anos, totalizando as 84 amostras.

As cachopas das plantas selecionadas foram colhidas e encaminhadas para secagem ao sol. Após a secagem as sementes foram separadas das cachopas manualmente. Parte das sementes foi adequadamente amostrada e embalada em potes plásticos que foram identificados e encaminhados para os laboratórios onde as análises seriam realizadas. Nos laboratórios, as sementes foram transferidas para frascos de vidro, etiquetados e armazenados ao abrigo da luz e sob-refrigeração até o momento das análises.

2.2 Umidade

A determinação de umidade foi feita com base no método descrito pela AOAC (HORWITZ, 2005), que tem como princípio a determinação indireta da água presente nas amostras por gravimetria. A água é eliminada por aquecimento em estufa e a massa do resíduo seco é determinada. A umidade é calculada pela diferença entre as massas das amostras antes e após a secagem.

2.3 Lípidos

A determinação de lípidos foi conduzida com base no método descrito pela AOAC (HORWITZ, 2005 – Método 2006.06), que tem

como princípio a extração de substâncias solúveis em hexano a quente.

2.4 Carotenoides totais expressos como bixina

O método analítico para a determinação de carotenoides totais expressos como bixina baseia-se na saponificação da bixina, diluição em solução de hidróxido de potássio e quantificação espectrofotométrica, conforme descrito por CARVALHO et al. (2010).

2.5 Geranilgeraniol

O método analítico utilizado foi baseado na metodologia descrita por ZAHN et al. (2000) e modificada por SILVA et al. (2010), e tem como princípio a saponificação da amostra com solução de KOH, extração da fração insaponificável com hexano, purificação pela partição entre solventes e análise cromatográfica em fase normal com detector de arranjo de diodos.

2.6 Tocotrienóis

O método analítico para a determinação de tocotrienóis baseia-se na diluição do material insaponificável, obtido pela extração com solvente alcalino, em n-hexano e detecção e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando coluna de fase normal (Si-60) e detector de fluorescência, conforme descrito por PANFILI et al., 2003.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 2 apresentam os resultados das análises de lípidos, geranilgeraniol, carotenoides totais expressos como bixina, umidade, γ -tocoferol, δ -tocoferol e tocoferóis totais das amostras avaliadas nesse estudo.

O teor de umidade das amostras variou de $5,78 \pm 0,11$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 19) a $14,32 \pm 0,06$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 44). Esses valores foram suficientes para evitar a proliferação de fungos durante o período de coleta, transporte e análise das amostras. STRINGHETA e SILVA (2008) estabelecem como 14 g (100g)⁻¹ o teor máximo de umidade de sementes de urucum, acima do qual existe o risco de crescimento de fungos.

Os resultados da concentração de lipídios das amostras variaram de $2,05 \pm 0,07$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 63) a $7,11 \pm 0,05$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 61). Esses valores abrangem os descritos por MATOS et al. (1992), SILVA et al. (2013) e CARVALHO et al. (2010) e indicam que pode existir uma grande variação no teor de óleo nas diversas variedades de urucum.

Os resultados das análises de carotenoides totais expressos como bixina apresentaram concentrações (base seca) variando de um mínimo de $2,00 \pm 0,09$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 34) a um máximo de $7,31 \pm 0,16$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 22). O mercado atual de sementes de urucum aponta como uma semente de boa qualidade quando a concentração de bixina alcança valores iguais ou superiores a 4,0 g (100g)⁻¹. Nesse estudo, menos de 30% das sementes dos acessos estudados apresentaram concentrações iguais ou superiores a esse valor.

As análises de geranilgeraniol das amostras de sementes de urucum foram realizadas com e sem saponificação. As amostras submetidas à saponificação apresentaram resultados significativamente ($p > 0,05$) superiores às amostras extraídas apenas com solvente orgânico (sem saponificação). Isso pode ser explicado pela presença de geranilgeraniol esterificado nas sementes de urucum (MERCADANTE et al., 1999). Os resultados apresentados nesse artigo referem-se à extração por saponificação. A Figura 1 apresenta cromatogramas típicos do padrão de geranilgeraniol e de uma amostra de semente de urucum. As análises de geranilgeraniol nas sementes de urucum apresentaram resultados que variaram de $0,49 \pm 0,05$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 27) a $2,62 \pm 0,32$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 68). Essa dispersão

aponta para a importância e a viabilidade de se conduzir estudos para a seleção de variedades com alta concentração de geranilgeraniol. Atualmente, o principal critério de qualidade das sementes utilizado para os trabalhos de melhoramento dessa cultura é a concentração de bixina.

As análises de tocotrienóis, nas sementes de urucum indicaram a presença predominante de γ e δ -tocotrienol, com o δ -tocotrienol representando aproximadamente 90% dos tocotrienóis observados. As formas α e β -tocotrienol e α , β , γ e δ -tocotrienóis não estavam presentes nas amostras analisadas ou estavam abaixo do limite de sensibilidade do método analítico utilizado [$0,01$ g (100g MS)⁻¹]. A Figura 2 apresenta cromatogramas típicos do padrão de tocoferóis e tocotrienóis e de uma amostra de semente de urucum. As concentrações de tocotrienóis totais (base seca) variaram de um mínimo de $0,25 \pm 0,02$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 24) a um máximo de $1,41 \pm 0,11$ g (100g MS)⁻¹ (amostra 67). Esses valores foram muito superiores ao apontado por FREGA et al. (1998). Como no caso do geranilgeraniol, a grande variação da concentração de tocotrienol nos acessos estudados indica a necessidade de se conduzir estudos para a seleção de variedades com alta concentração desse nutriente.

Os resultados também foram avaliados por meio de análise de componentes principais. A amostra 38 se destacou sobre as demais por apresentar uma alta concentração de todas as substâncias analisadas.

Foram observadas baixas correlações lineares, porém significativas ($p > 5\%$) e positivas, entre as concentrações de geranilgeraniol e lípides (0,25), bixina e lípides (0,23), tocotrienóis e lípides (0,14) e entre bixina e tocotrienóis (0,14). Não foram observadas correlações entre geranilgeraniol e bixina e entre geranilgeraniol e tocotrienóis.

Não houve diferença significativa ($p > 5\%$) nas concentrações das substâncias estudadas quando se compararam as amostras provenientes dos mesmos acessos, plantados na área antiga, (plantas com mais de 30 anos) e na área nova (plantas com 3 anos).

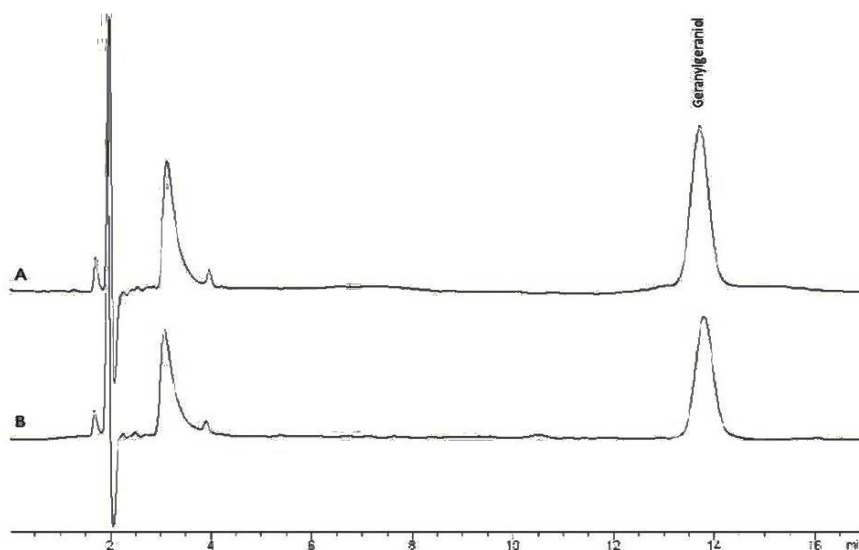


FIGURA 1. Cromatogramas típicos do padrão de geranylgeraniol (A) e de uma amostra de semente de urucum (B). As condições cromatográficas foram as seguintes: Coluna cromatográfica RP-18-Lichrocart, Lichrospher com 250mm de comprimento e 4mm de diâmetro interno e partículas de 5 μ m.. Fase Móvel: Metanol:Acetato de Amônia, 50mM (90:10). Vazão 1,0mL.min⁻¹. Detector de Arranjo de Diodos (Cromatogramas a 210nm).

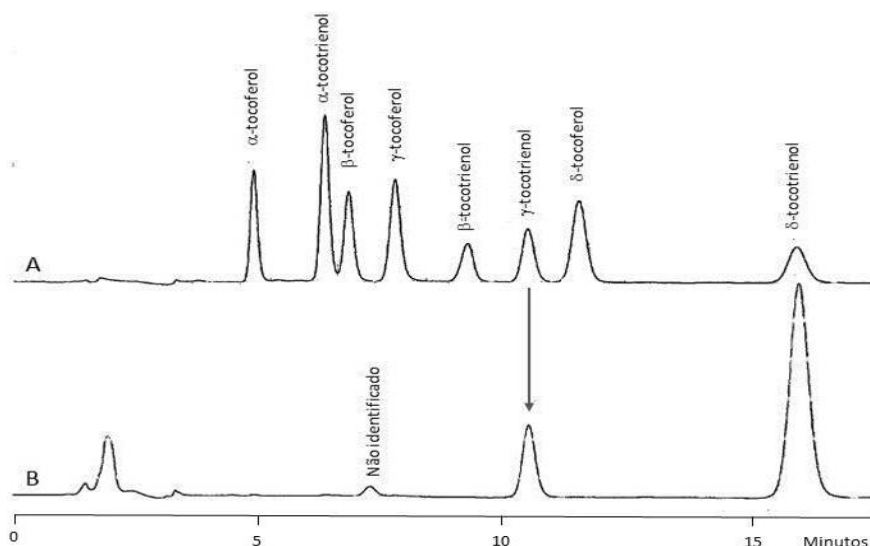


FIGURA 2. Cromatogramas típicos do padrão de tocoferóis e tocotrienóis (A) e de uma amostra de semente de urucum (B). As condições cromatográficas foram as seguintes: Coluna cromatográfica Si-60-Lichrocart, Lichrospher com 250mm de comprimento e 4mm de diâmetro interno e partículas de 5 μ m. Fase Móvel: n-hexano:acetato de etila:ácido acético (97,6:1,8:0,6). Vazão 1,5mL.min⁻¹. Detector de Fluorescência (Excitação = 294nm, Emissão = 326nm).

TABELA 1. Resultados de análises de Lipídes, Geranilgeraniol (GG), Carotenoides totais expressos como Bixina e Umidade em sementes de urucum dos acessos do banco de germoplasma do IAC. Os resultados estão expressos em g (100g MS)⁻¹.

N	Lípides	s	SK ¹	Geranilgeraniol	s	SK	Bixina ²	s	SK	Umidade	s
1	2,24	0,01	j	0,69	0,01	f	3,05	0,01	i	12,94	0,24
2	2,87	0,13	h	1,13	0,02	e	3,52	0,12	h	8,80	0,18
3	2,85	0,12	h	1,08	0,10	e	3,57	0,07	h	8,75	0,22
4	3,43	0,10	g	0,96	0,01	e	2,89	0,05	j	9,69	0,07
5	3,02	0,06	h	0,82	0,02	f	2,82	0,00	j	11,36	0,01
6	2,63	0,02	i	0,99	0,11	e	3,88	0,04	g	10,44	0,22
7	3,08	0,07	h	1,13	0,04	e	2,71	0,02	j	9,96	0,15
8	3,24	0,08	h	1,78	0,02	c	2,60	0,11	j	10,00	0,06
9	3,40	0,02	g	1,50	0,16	d	2,75	0,04	j	10,37	0,11
10	3,41	0,04	g	1,18	0,01	e	3,18	0,05	i	10,34	0,02
11	3,43	0,05	g	1,19	0,01	e	2,82	0,13	j	9,71	0,20
12	2,97	0,06	h	0,98	0,01	e	3,76	0,09	g	8,91	0,04
13	3,45	0,14	g	1,70	0,16	c	2,46	0,04	k	11,00	0,04
14	2,94	0,14	h	1,12	0,05	e	3,22	0,07	i	10,14	0,15
15	3,43	0,05	g	1,26	0,02	e	2,67	0,03	j	11,27	0,17
16	3,45	0,11	g	1,57	0,07	d	2,01	0,01	l	10,61	0,28
17	3,41	0,16	g	1,70	0,02	c	2,80	0,05	j	9,23	0,01
18	3,00	0,06	h	1,49	0,06	d	4,05	0,01	f	10,88	0,25
19	2,81	0,13	h	1,48	0,03	d	2,77	0,02	j	5,78	0,11
20	3,38	0,01	g	0,93	0,03	f	2,90	0,00	j	9,82	0,11
21	2,99	0,05	h	0,85	0,00	f	2,28	0,05	k	8,73	0,06
22	5,00	0,06	d	1,57	0,02	d	7,31	0,16	a	9,78	0,04
23	4,66	0,07	d	1,10	0,07	e	4,78	0,17	b	12,37	0,08
24	2,48	0,07	i	0,56	0,02	f	2,15	0,03	l	11,40	0,01
25	2,55	0,09	i	0,63	0,02	f	3,10	0,07	i	10,74	0,18
26	3,36	0,13	g	0,82	0,02	f	3,79	0,17	g	10,71	0,08
27	2,14	0,11	j	0,49	0,05	f	2,73	0,02	j	8,39	0,16
28	3,16	0,14	h	0,76	0,00	f	4,68	0,00	d	11,43	0,02
29	3,28	0,03	g	0,88	0,01	f	2,89	0,06	j	8,57	0,12
30	3,42	0,02	g	0,77	0,01	f	4,25	0,01	f	10,51	0,04
31	4,40	0,13	e	0,62	0,01	f	4,49	0,03	e	10,80	0,29
32	4,01	0,09	f	1,21	0,01	e	4,71	0,08	d	11,88	0,03

Continua.

TABELA 1. (Continuação)

N	Lípides	s	SK ¹	Geraniogeraniol	s	SK	Bixina ²	s	SK	Umidade	s
33	3,37	0,11	g	0,78	0,12	f	3,31	0,06	i	9,60	0,02
34	3,33	0,11	g	1,03	0,02	e	2,00	0,09	l	10,61	0,20
35	2,64	0,06	i	1,05	0,04	e	3,25	0,06	i	9,46	0,32
36	3,53	0,10	g	1,28	0,05	e	3,13	0,02	i	10,11	0,17
37	3,40	0,10	g	0,99	0,03	e	3,88	0,03	g	10,31	0,02
38	6,91	0,75	a	1,82	0,19	c	6,63	0,09	b	12,54	0,04
39	6,50	0,03	b	1,53	0,04	d	4,57	0,10	e	12,67	0,05
40	6,43	0,29	b	1,78	0,16	c	4,43	0,08	e	12,54	0,18
41	3,29	0,16	g	1,15	0,01	e	4,02	0,10	f	12,66	0,01
42	4,47	0,22	e	0,82	0,02	f	4,32	0,06	f	11,32	0,20
43	5,53	0,33	c	2,45	0,02	a	2,65	0,14	j	12,37	0,18
44	4,68	0,02	d	1,51	0,01	d	3,35	0,05	h	14,32	0,06
45	4,41	0,12	e	1,91	0,05	c	3,85	0,05	g	11,33	0,00
46	4,29	0,01	e	1,46	0,04	d	4,54	0,05	e	10,12	0,14
47	4,15	0,08	f	0,88	0,11	f	3,39	0,03	h	12,59	0,05
48	3,88	0,08	f	1,40	0,03	e	4,66	0,05	d	12,27	0,36
49	3,11	0,07	h	1,11	0,14	e	4,39	0,06	e	9,79	0,19
50	3,81	0,13	f	1,98	0,13	c	3,67	0,10	h	10,32	0,21
51	2,97	0,03	h	0,97	0,13	e	4,61	0,06	d	9,92	0,05
52	3,39	0,14	g	1,30	0,06	e	4,91	0,05	c	8,52	0,19
53	3,62	0,10	g	1,06	0,12	e	2,77	0,04	j	10,95	0,14
54	3,51	0,05	g	1,45	0,02	d	4,66	0,20	d	10,87	0,14
55	4,90	0,07	d	2,61	0,30	a	3,41	0,03	h	12,71	0,29
56	4,92	0,08	d	2,15	0,01	b	2,68	0,05	j	12,75	0,15
57	4,06	0,12	f	1,24	0,00	e	4,00	0,06	f	13,14	0,36
58	3,17	0,07	h	1,49	0,01	d	4,05	0,04	f	11,42	0,26
59	5,67	0,04	c	1,52	0,06	d	3,99	0,13	f	12,10	0,24
60	6,97	0,15	a	1,94	0,02	c	5,08	0,22	c	13,98	0,05
61	7,11	0,05	a	2,04	0,01	b	5,13	0,12	c	12,79	0,22
62	2,61	0,13	i	0,84	0,16	f	3,08	0,02	i	12,34	0,01
63	2,05	0,07	j	0,85	0,11	f	4,08	0,01	f	13,24	0,10
64	2,93	0,06	h	1,56	0,23	d	3,77	0,01	g	11,68	0,32
65	3,50	0,04	g	1,22	0,09	e	2,46	0,00	k	14,13	0,31
66	3,75	0,12	g	2,19	0,22	b	2,94	0,01	j	12,24	0,10
67	3,07	0,01	h	2,30	0,18	b	3,05	0,01	i	12,69	0,40

Continua.

TABELA 1 (Continuação)

N	Lípides	s	SK ¹	Geranilgeraniol	s	SK	Bixina ²	s	SK	Umidade	s
68	3,54	0,10	g	2,62	0,32	a	3,07	0,14	i	12,74	0,30
69	3,19	0,04	h	1,31	0,03	e	3,67	0,07	h	11,99	0,11
70	4,33	0,08	e	1,59	0,02	d	3,07	0,10	i	11,70	0,10
71	3,22	0,05	f	2,47	0,20	a	4,03	0,09	f	11,86	0,16
72	3,75	0,03	g	1,60	0,01	d	3,76	0,15	g	11,62	0,08
73	3,00	0,04	h	1,13	0,17	e	3,86	0,16	g	11,95	0,07
74	2,89	0,10	h	1,10	0,04	e	3,30	0,00	i	12,21	0,07
75	3,17	0,05	h	1,22	0,03	e	4,13	0,19	f	12,13	0,42
76	3,32	0,10	g	1,32	0,01	e	3,49	0,01	h	11,62	0,02
77	3,19	0,06	h	1,08	0,06	e	3,07	0,03	i	11,68	0,14
78	3,30	0,02	g	1,04	0,28	e	3,18	0,20	i	12,25	0,16
79	3,83	0,01	f	1,86	0,10	c	3,69	0,05	h	12,10	0,50
80	3,02	0,03	h	0,99	0,13	e	2,86	0,15	j	12,05	0,15
81	3,04	0,04	h	1,10	0,11	e	3,02	0,11	i	11,28	0,04
82	3,56	0,03	g	1,44	0,11	d	3,98	0,09	f	11,67	0,06
83	3,39	0,15	g	1,49	0,16	d	3,54	0,11	h	13,18	0,31
84	3,26	0,09	h	1,15	0,01	e	5,16	0,01	c	14,06	0,13

Média de no mínimo duas repetições analíticas simultâneas e independentes; N= Número da amostra; s = estimativa de desvio padrão; ¹ SK = Resultados das análises estatísticas de comparação de médias segundo Scott e Knott - as médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si (p>5%); ² Carotenoides totais expresso como bixina.

TABELA 2. Resultados de análises de γ -tocotrienol, δ -tocotrienol e Tocotrienóis Totais em sementes de urucum dos acessos do banco de germoplasma do IAC. Os resultados estão expressos em g (100g MS)⁻¹.

N	γ -tocotrienol			δ -tocotrienol			Tocotrienol total		
	s	SK		s	SK		s	SK	
1	0,07	0,00	d	0,34	0,01	e	0,41	0,01	e
2	0,11	0,01	c	0,66	0,00	d	0,76	0,00	c
3	0,09	0,00	d	0,68	0,01	c	0,77	0,02	c
4	0,08	0,01	d	0,41	0,04	e	0,49	0,05	e
5	0,15	0,03	b	0,64	0,08	d	0,80	0,11	c
6	0,09	0,00	d	0,56	0,01	d	0,65	0,01	d
7	0,07	0,00	d	0,32	0,00	e	0,39	0,00	e
8	0,14	0,01	c	0,50	0,01	d	0,64	0,02	d
9	0,06	0,01	e	0,32	0,06	e	0,38	0,06	e
10	0,05	0,00	e	0,56	0,01	d	0,61	0,00	d
11	0,09	0,00	d	0,41	0,00	e	0,50	0,00	e
12	0,06	0,00	e	0,48	0,02	d	0,54	0,02	e
13	0,11	0,02	c	0,67	0,01	d	0,78	0,01	c
14	0,10	0,01	c	0,64	0,01	d	0,74	0,00	c
15	0,08	0,00	d	0,51	0,02	d	0,59	0,02	d
16	0,07	0,00	d	0,41	0,00	e	0,48	0,00	e
17	0,07	0,00	d	0,44	0,02	e	0,51	0,02	e
18	0,09	0,00	d	0,37	0,01	e	0,46	0,01	e
19	0,08	0,01	d	0,35	0,04	e	0,43	0,04	e
20	0,10	0,00	d	0,63	0,01	d	0,73	0,01	d
21	0,12	0,00	c	0,53	0,02	d	0,65	0,02	d
22	0,05	0,00	e	0,20	0,01	e	0,25	0,02	e
23	0,10	0,01	c	0,95	0,02	b	1,05	0,03	b
24	0,09	0,00	d	0,92	0,03	b	1,02	0,04	b
25	0,09	0,00	d	0,53	0,08	d	0,61	0,09	d
26	0,13	0,00	c	0,79	0,01	c	0,92	0,01	b
27	0,11	0,02	c	0,71	0,03	c	0,82	0,05	c
28	0,12	0,01	c	0,60	0,00	d	0,72	0,01	d
29	0,06	0,00	e	0,53	0,01	d	0,59	0,01	d
30	0,12	0,01	c	0,58	0,00	d	0,70	0,01	d
31	0,09	0,00	d	0,92	0,01	b	1,00	0,01	b
32	0,07	0,00	d	0,48	0,02	d	0,55	0,02	d

Continua.

TABELA 2. (Continuação).

N	γ -tocotrienol	s	SK	δ -tocotrienol	s	SK	Tocotrienol total	s	SK
33	0,12	0,00	c	0,82	0,01	c	0,93	0,00	b
34	0,05	0,00	e	0,38	0,02	e	0,43	0,02	e
35	0,08	0,00	d	0,53	0,03	d	0,62	0,03	d
36	0,08	0,00	d	0,38	0,01	e	0,47	0,01	e
37	0,08	0,00	d	0,73	0,14	c	0,82	0,13	c
38	0,11	0,03	c	0,93	0,06	b	1,04	0,09	b
39	0,06	0,01	e	0,88	0,05	b	0,94	0,05	b
40	0,07	0,02	d	0,90	0,15	b	0,97	0,17	b
41	0,07	0,00	e	0,64	0,07	d	0,71	0,08	d
42	0,05	0,00	e	0,57	0,01	d	0,63	0,01	d
43	0,16	0,00	b	0,59	0,04	d	0,74	0,04	c
44	0,08	0,00	d	0,42	0,02	e	0,50	0,02	e
45	0,08	0,00	d	0,57	0,02	d	0,65	0,02	d
46	0,10	0,00	c	0,95	0,02	b	1,05	0,01	b
47	0,08	0,01	d	0,56	0,03	d	0,64	0,02	d
48	0,05	0,00	e	0,61	0,06	d	0,66	0,06	d
49	0,06	0,00	e	0,63	0,04	d	0,70	0,04	d
50	0,10	0,01	c	0,55	0,05	d	0,65	0,06	d
51	0,07	0,01	e	0,59	0,08	d	0,66	0,08	d
52	0,05	0,00	e	0,38	0,03	e	0,42	0,03	e
53	0,07	0,01	d	0,46	0,05	e	0,54	0,06	e
54	0,08	0,01	d	0,52	0,01	d	0,61	0,00	d
55	0,13	0,02	c	0,53	0,10	d	0,66	0,12	d
56	0,09	0,00	d	0,43	0,01	e	0,52	0,01	e
57	0,12	0,01	c	0,86	0,02	b	0,97	0,02	b
58	0,10	0,00	c	0,54	0,02	d	0,64	0,02	d
59	0,05	0,00	e	0,64	0,08	d	0,70	0,08	d
60	0,07	0,01	e	0,58	0,06	d	0,64	0,05	d
61	0,07	0,00	e	0,58	0,02	d	0,65	0,01	d
62	0,05	0,00	e	0,33	0,02	e	0,38	0,02	e
63	0,07	0,00	e	0,36	0,01	e	0,44	0,02	e
64	0,11	0,00	c	0,35	0,02	e	0,46	0,03	e
65	0,12	0,00	c	0,63	0,01	d	0,74	0,01	c
66	0,16	0,01	b	0,76	0,02	c	0,92	0,03	b
67	0,07	0,00	d	0,42	0,02	e	0,50	0,02	e

Continua.

TABELA 2. (Continuação).

N	γ -tocotrienol	s	SK	δ -tocotrienol	s	SK	Tocotrienol total	s	SK
68	0,09	0,01	d	0,55	0,04	d	0,64	0,05	d
69	0,06	0,00	e	0,49	0,09	d	0,55	0,09	d
70	0,14	0,02	b	0,72	0,09	c	0,86	0,11	c
71	0,22	0,02	a	1,20	0,09	a	1,41	0,11	a
72	0,10	0,00	c	0,49	0,11	d	0,60	0,10	d
73	0,07	0,00	e	0,27	0,02	e	0,34	0,02	e
74	0,12	0,00	c	0,50	0,03	d	0,62	0,03	d
75	0,07	0,00	d	0,42	0,01	e	0,50	0,01	e
76	0,10	0,00	d	0,52	0,01	d	0,61	0,02	d
77	0,08	0,00	d	0,44	0,01	e	0,51	0,01	e
78	0,09	0,00	d	0,37	0,01	e	0,47	0,01	e
79	0,08	0,02	d	0,30	0,06	e	0,38	0,08	e
80	0,11	0,00	c	0,51	0,01	d	0,62	0,01	d
81	0,10	0,01	d	0,49	0,06	d	0,58	0,07	d
82	0,12	0,00	c	0,56	0,05	d	0,67	0,05	d
83	0,07	0,00	d	0,42	0,01	e	0,49	0,01	e
84	0,05	0,00	e	0,38	0,00	e	0,43	0,00	e

Média de no mínimo duas repetições analíticas simultâneas e independentes; N= Número da amostra; s = estimativa de desvio padrão; ¹SK = Resultados das análises estatísticas de comparação de médias segundo Scott e Knott - as médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si ($p>5\%$); Tocotrienol Total (soma de γ e δ -tocotrienol).

4. CONCLUSÃO

Nesse trabalho observamos grande variação na concentração de todas as substâncias analisadas e com os tocotrienóis chegando a valores muito superiores aos apontados pela literatura até esse momento.

O δ -tocotrienol representou aproximadamente 90% das formas de tocotrienóis observados nas sementes de urucum.

Sugerimos que sejam conduzidos estudos visando selecionar variedades de urucum com sementes ricas em geranylgeraniol e tocotrienóis e incorporar essas substâncias nos estudos de melhoramento dessa cultura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURKE, Y. D.; STARK, M. J.; ROACH, S. L.; SEN, S. E.; CROWELL, P. L.; Inhibition of Pancreatic cancer Growth by the Dietary Isoprenoids Farnesol and Geraniol. *Lipids*, v. 32, n. 2, p.151-156, 1997.
- 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 lipídeos em sementes de urucum da coleção do Instituto Agrônômico (IAC). *Bragantia*, v. 69, n. 3, p. 519 – 524, 2010.
- CARVALHO, P.R.N.; DA SILVA M.G.; MOREIRA, C.G.C. Avaliação dos Métodos Espectrofotométricos de Análise de Sementes de Urucum (*Bixa orellana*, L.). *Colet. ITAL*, Campinas, v.23, p.2, p. 181-188, 1993.
- CRAVEIRO, A. R.; OLIVEIRA, C. L. A.; ARAUJO, F. W. L. The presence of geranylgeraniol in *Bixa orellana*, Linn. *Química Nova*, v. 12, n. 3, 1989.

- ESPINDOLA, R. M.; MAZZANTINI, R. P.; ONG, T.P.; CONTI, A.; HEIDOR, R.; MORENO, F. S. Geranylgeraniol and β -ionone inhibit hepatic preneoplastic lesions, cell proliferation, total plasma cholesterol and DNA damage during the initial phases of hepatocarcinogenesis, but only former inhibits NF- κ B activation. *Carcinogenesis*, v. 26, n. 6, p. 1091-1099, 2005.
- FISHER, J. E.; ROGER, M. J.; HALASY, J. M.; LUCKMAN, S. P.; HUGHES, D. E.; MASARACHA, P. J.; WESOLOWSKI, G.; RUSSEL, R. G. G.; RODAN, G. A.; RESZKA, A. A. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption and kinase activation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 96, p. 133-138, 1999.
- FREGA, N.; MOZZON, M.; BOCCI, F. Identificação na estimativa os tocotrienóis na fração lipídica do Annatto por Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *JAOAC*, v. 75, p. 1723-1727, 1998.
- HORWITZ, W. (Ed). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005.
- 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.
- MAZZANI, E.; MARÍN C.R.; SEGOVIA, V. Estudio de la variabilidad existente en la colección de onoto (*Bixa orellana* L.) del CENIAP; FONAIAP; Venezuela. *Rev. Fac. Agron. Luz*, v. 17, p. 492-504, 2000.
- McGUIRE, T. F.; SEBTI, S. M. Geranylgeraniol potentiates lovastatin inhibition of oncogenic H-Ras processing and signaling while preventing cytotoxicity. *Oncogene*, v. 14, p. 305-312, 1997.
- MERCADANTE, A. Z.; STECK, A.; PFANDER, H. Three minor carotenoids from annatto (*Bixa orellana*) seeds. *Phytochemistry*, v. 52, p. 135-139, 1999.
- MYERS, C. E.; TREPPEL, J.; SAUSVILLE, E.; SAMID, D.; MILLER, A.; CURT, G. Monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes as cancer therapy. US Patent N° 5.602.184, 1997.
- PANFILI, G.; FRATIANNI, A.; IRANO M. Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v. 51, p. 3940-3944, 2003.
- PINEDA, J.E.D.; CALDERÓN, L.S. Planta piloto para obtener colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana*). *Revista Universidad EAFIT, Colombia*, v. 39, n. 131, p. 8-22, 2003.
- PRESTON, H. D.; RICKARD, M. D. Extraction and Chemistry on annatto. *Food Chemistry*, v. 5, p. 47-56, 1980.
- SEBTI, M. S.; McGUIRE, T. F. Geranylgeraniol/Lovastatin: A novel approach to blocking cancer transformation without cytotoxicity. US Patent N° 6.083.979, 2000.
- SEM, C. K.; KHANNA, S.; ROY, S. Tocotrienols in health and disease. The other half of the natural vitamin E family. *Molecular Aspects of Medicine*. V. 28, p. 692 – 728, 2007.
- SILVA, C. K.; SILVA, C. B.; LORDELLO, A. L. L.; ZANIN, S. M. W.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Identificação de δ -tocotrienol e de ácidos graxos no óleo fixo de urucum (*Bixa orellana* Linné). *Rev. Bras. Pl. Med.* v. 15, n. 4, p. 508 – 512, 2013.
- SILVA, M.G.; LUIZ, F.A.; da 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 2^o Reunião Nacional da Cadeia Produtiva do Urucum**, Campinas, SP, 2010.
- STRINGHETA P. C.; SILVA, P. I. Pigmentos de urucum. *Extração, Reações Químicas, Uso e Aplicações*. Viçosa, MG. 2008, 166p.
- TAN, B.; FOLEY, J. Tocotrienols and geranylgeraniol from *Bixa orellana* by products. US Patent N° 6.350.453, 2002.
- VASCONCELLOS, D. V.; DUARTE, M. E. L.; MAIA, R. C. Efeito antitumoral dos bifosfonatos: Uma Nova Perspectiva Terapêutica. *Ver. Bras. Cancerologia*, v. 50, n. 1, p. 45-54, 2004.
- VIRTATEN, S.S.; VÄÄNÄNEN, K.; HÄRKÖNEN, P. L.; LAKKAKORPI, P.T. Alendronate Inhibits Invasion of PC-3 Prostate Cancer Cells by Affecting the Mevalonate Pathway. *Cancer Research*, v. 62, p. 2708-2714, 2002.
- ZAHN, T. J.; EILERS, M.; GUO, Z.; KSEBATI, M. B.; SIMON, M.; SCHOLTEN J. D.; SMITH, S. O.; GIBBS, R. A. Evaluation of Isoprenoid Conformation in Solution and in the Active Site of Protein-Farnesyl Transferase Using Carbon-13 Labeling in Conjunction with Solution- and Solid-State NMR. *Journal of the American Chemical Society*, Washington, v. 122, n. 30, p. 7153 – 7164, 2000.