



ESTUDO DA ESTABILIDADE DE BIXINA EM SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana* L.) ARMAZENADAS EM DIFERENTES EMBALAGENS

Beatriz Maluf Dória de **Oliveira**¹; João Victor Silva de **Oliveira**²; Marta Gomes da **Silva**³; Natani de Paula Lima **Amaro**⁴; Paulo Roberto Nogueira **Carvalho**⁵.

Nº 20214

RESUMO - No Brasil, a produção de sementes de urucum se concentra entre julho e agosto. Isso torna necessário o armazenamento desses grãos para serem processadas durante o resto do ano pelas indústrias produtoras de corantes. O método de armazenamento tradicionalmente realizado pelos produtores e pelas indústrias de corantes é o envase em sacos de polipropileno entrelaçado, denominados de sacos de ráfia, e a estocagem em temperatura ambiente. Porém, a bixina, principal pigmento presente nas sementes de urucum, é sensível a fatores como oxigênio, luz e temperatura. Diante disso, recentemente foi introduzida uma tecnologia de armazenamento em embalagens que prometem a proteção dos grãos, do oxigênio e da luz. O argumento utilizado é que esse tipo de envase mantém os pigmentos das sementes durante todo o período de entressafra. Contudo, nenhum estudo ainda tinha sido publicado para sustentar essa hipótese. Tendo isso em vista, este projeto procurou comparar a estabilidade dos pigmentos de sementes de urucum armazenadas em dois tipos de embalagens: sacos de ráfia e embalagem de poli(tereftalato de etileno) metalizado laminado com polietileno (PET met./PE - envasadas a vácuo), ambas armazenadas em duas temperaturas: 25°C e -25°C. Os resultados de 330 dias de armazenamento indicaram que não houve degradação significativa ($p \leq 95\%$) da bixina nas sementes de urucum armazenadas a -25°C e nas sementes das embalagens PET met./PE, armazenada a 25°C, envasadas a vácuo. Contudo, as sementes armazenadas em sacos de ráfia à 25°C apresentaram degradação linear, chegando a aproximadamente 50% do pigmento inicial no período de um ano.

Palavras-chaves: Urucum; *Bixa orellana* L.; Bixina, Armazenamento.

¹ Autora, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA – UNICAMP, Campinas – SP; bia_maluf@hotmail.com

² Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Tecnologia em Processos Químicos – FATEC, Campinas – SP.

³ Colaborador, Pesquisadora do Instituto de Tecnologia de Alimentos. 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 – *In Brazil, the production of annatto seeds is concentrated between July and August. It is necessary to store these grains to be processed during the rest of the year by the dye-producing industries. The storage method traditionally carried out by producers and the dye industries is filling in woven polypropylene bags, called raffia bags, and storage at room temperature. However, bixin, the main pigment present in annatto seeds, is sensitive to factors such as oxygen, light and temperature. Given this, packaging technology has recently been introduced that promises to protect grains, oxygen and light. It is told that this type of filling maintains the pigments of the seeds throughout the off-season, however, no study has yet been published to support this hypothesis. Having this in mind, the objective of this project is to compare the stability of the annatto pigments stored in two types of packaging: raffia bags and polyethylene terephthalate (LV) metalized packaging with polyethylene (PET met./PE - vacuum packed), both stored at two temperatures: 25°C and -25°C. The results of 330 days of storage indicated that there was no significant degradation ($p \leq 95\%$) of the bixin in the annatto seeds stored at -25°C and in the seeds of PET packaging met./PE, stored at 25°C, vacuum-filled. However, seeds stored in raffia bags at 25°C showed linear degradation, reaching approximately 50% of the initial pigment within a year.*

Keywords: Annatto; *Bixa orellana* L.; Bixin; Storage

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).

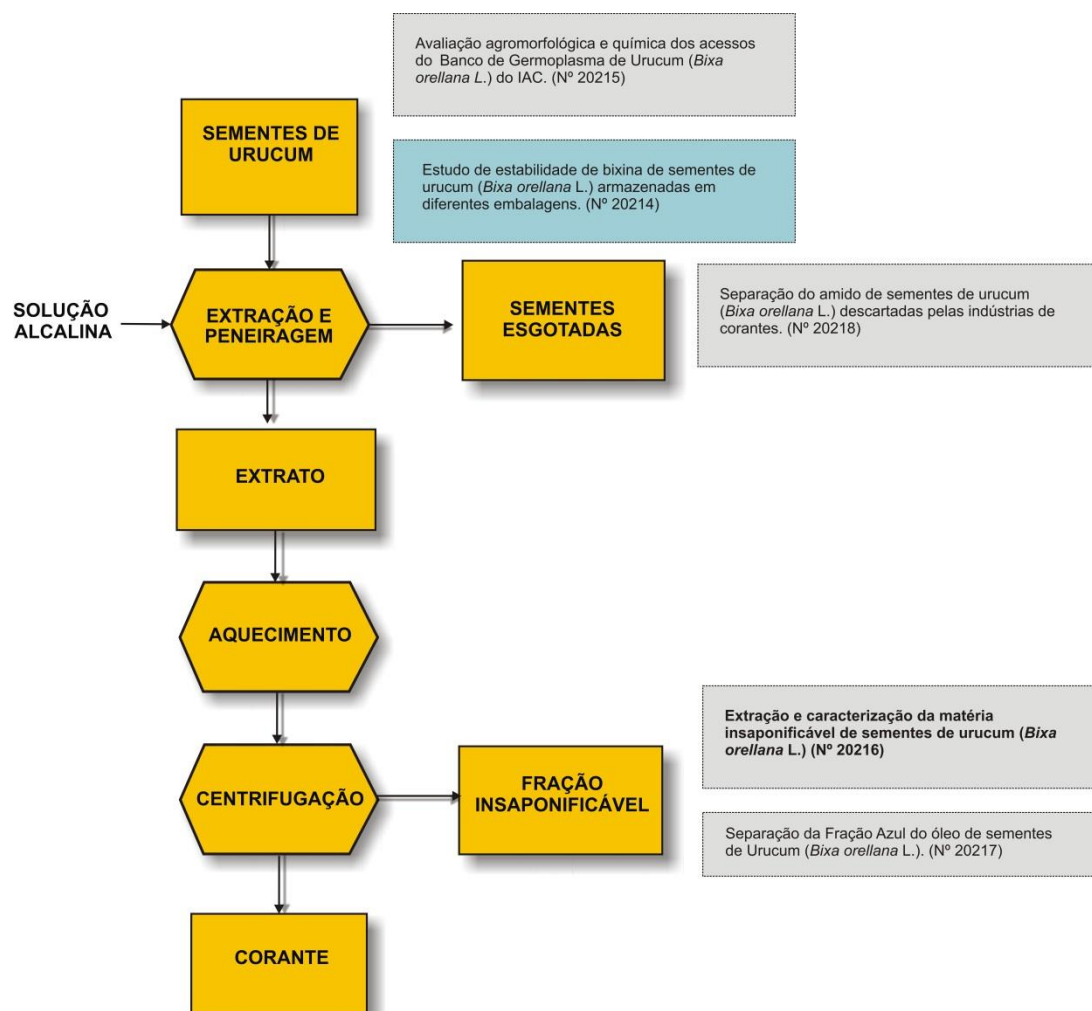


Figura 1. Localização da contribuição dos diferentes estudos no processo de separação da Fração Azul do óleo de urucum. Trabalhos apresentados no 14º Congresso de Iniciação Científica (CIIC 2020).



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 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 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.), também conhecido como urucu, açafraão, açafroa e açafroeira-da-terra, é um fruto considerado nativo do Brasil, cujas sementes possuem pigmento vermelho. Seu uso se dá desde os tempos mais remotos, no qual habitantes da América Central e do Sul usavam as sementes de urucum como tinta para artefatos e pinturas corporais. A primeira citação à planta no Brasil foi atribuída a Pero Vaz de Caminha em sua carta destinada a D. Manuel, rei de Portugal, relatando a descoberta do Brasil (Carvalho, 1989)

Atualmente o Brasil é considerado o maior produtor mundial de sementes de urucum. Apesar do grande empenho para aumentar e modernizar a produção nacional ao longo dos anos, ela ainda é instável. Em 2016, problemas climáticos diminuiu a safra brasileira em aproximadamente 12% em relação ao ano anterior, atingindo 12.817 toneladas (Figura 2). Ainda assim, este número representa 39% da produção mundial. Em 2017 a produção se recuperou parcialmente e atingiu 13.363 toneladas, um aumento de 4% em relação ao ano anterior (IBGE, 2019).

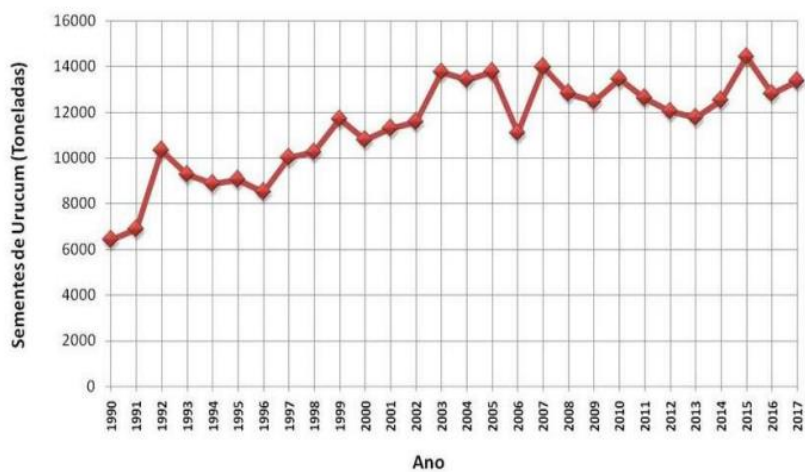


Figura 2. Produção de sementes de urucum no Brasil desde 1990, em toneladas (IBGE).

O urucum possui em suas sementes pigmentos vermelhos onde predomina a bixina (Scotter *et al.*, 1998). Esses pigmentos são muito usados pelas indústrias de alimentos, farmacêuticas e cosméticos. O principal produto derivado das sementes de urucum é o colorau, um condimento tipicamente brasileiro, mas seus pigmentos são encontrados em muitos produtos como massas, salsichas, sorvetes, temperos etc.

Estas substâncias pertencem a uma classe de pigmentos naturais denominados carotenóides, sendo a bixina reconhecida como o primeiro carotenoide cis-poliene de ocorrência natural (Giridhar *et al.*, 2014; Scotter, 2009). A bixina é reconhecida também como o éster monometílico de um carotenoide denominado norbixina (Figura 3). Apesar de ser encontrada em pequenas concentrações nas sementes de urucum, a norbixina torna-se importante por ser um dos principais corantes produzidos a partir da extração alcalina dos pigmentos das sementes de urucum.

Como todo carotenoide, a bixina é um composto que apresenta sistema de duplas ligações conjugadas, tornando-a susceptível a degradação pela luz, temperatura e oxigênio. (Bareth *et al.*, 2002; Rios & Mercadante, 2004; Tocchini & Mercadante, 2001).

Estudos já realizados sobre o efeito da luz, ar, oxidantes e antioxidantes em extratos de urucum indicaram que a luz foi o fator que mais degradou a bixina (Najar *et al.*, 1988). Montenegro *et al.*, (2004) estudaram a fotossensibilização da bixina e apontaram o estado triplete da bixina (3Bix*) como precursor da isomerização cis-trans. Segundo os autores, o isômero trans-bixina é o principal produto formado pela degradação da cis-bixina pela luz.

Outros estudos mostraram que um dos principais produtos da degradação térmica da bixina é o ácido monometil do éster 4, 8-dimetil tetradecahexanodióico, um composto de cor amarela com 17 carbonos (C₁₇) em sua estrutura química (McKeown e Mark, 1962).

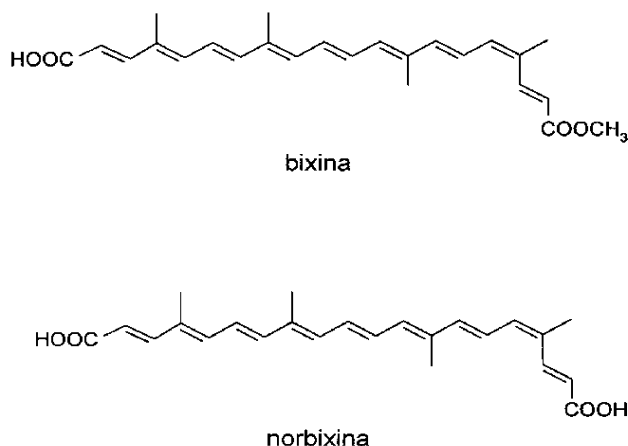


Figura 3. Estrutura química dos pigmentos bixina e norbixina.

Outro fator de extrema importância relacionado à degradação da bixina nas sementes de urucum, é a umidade. Sementes com umidade muito inferior a 10% podem indicar um produto armazenado há muito tempo ou em condições inadequadas, fazendo com que o pigmento se perca facilmente pelo atrito entre as sementes. Já sementes com umidade elevada (superior a 14%), podem contribuir para o aparecimento de fungos, trazendo prejuízos e perdas para o produtor (Carvalho, 2017).

O armazenamento de sementes de urucum é uma prática comum, uma vez que sua produção não ocorre durante todo o ano. O método mais tradicional de armazenamento das sementes de urucum é em sacos de rafia a temperatura ambiente. A rafia é uma resina derivada polipropileno (PP), um polímero termoplástico advindo do refino do petróleo. É um material 100% reciclável, reutilizável e de baixo custo. Ao ser utilizada como embalagem, o tecido de rafia é entrelaçado (Steinhauser, 2016).

Porém, devido às características dos sacos de rafia e as propriedades dos pigmentos do urucum, este método de armazenamento pode não ser o mais eficiente. Devido à labilidade à luz, oxigênio e umidade, a bixina pode ser facilmente degradada quando armazenada nessas condições, por tempos longos. Estima-se que em poucos meses, nessas condições, ocorra a degradação de grande parte da bixina presente nas sementes de urucum (Carvalho, 2017).

Diante disso, uma nova tecnologia de armazenamento à vácuo trouxe novas perspectivas para a cadeia produtiva do urucum. Nesse processo, o ar de uma embalagem com baixa permeabilidade ao oxigênio, é reduzido por sucção e a embalagem é selada. Assim, utilizando



filmes adequados, inibe-se a passagem de luz e a troca de gases entre a atmosfera e o material armazenado (Camargo e Carvalho, 2008). Portanto, apesar do seu custo mais elevado, ela tem como premissa a conservação da bixina nas sementes por um período de estocagem muito maior, evitando perdas e prejuízos aos produtores e indústrias.

Contudo, nenhum estudo foi publicado até esse momento apontando essas vantagens e quantificando os valores envolvidos. Esse projeto teve como objetivo avaliar a estabilidade dos pigmentos de sementes de urucum armazenadas em dois tipos de embalagens: sacos de rafia e embalagem de poli(tereftalato de etileno) metalizado laminado com polietileno (PET met./PE - envasadas a vácuo), ambas armazenadas em duas temperaturas: 25°C e -25°C.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

Para a realização desse estudo, foram utilizadas sementes de urucum da safra 2019 do cultivar Piave, provenientes da região de Dracena - SP.

Para o acondicionamento das sementes, foram usadas embalagens de polipropileno entrelaçado (rafia) com dimensões de aproximadamente 20cm de comprimento por 9cm de largura e embalagens de poli(tereftalato) de etileno metalizado laminado com polietileno (PET met./PE - envasadas a vácuo) com aproximadamente 16 cm de comprimento por 16 cm de largura, com taxa de permeabilidade ao oxigênio de aproximadamente 4,0mL(CNTP)/m²/dia a 23°C e 1 atm.

2.2 Equipamento

Para o armazenamento das amostras foi utilizado uma câmara marca Eletrolab, modelo 131FC, com controle de temperatura, umidade e foto período (1500 lux, por períodos de 12 horas), ajustada para uma temperatura de 25°C ± 5°C e 75% ± 5% de umidade relativa e um freezer vertical marca Electrolux, modelo H400, ajustado para uma temperatura de -20°C ± 5°C. As medidas de ambos os equipamentos foram monitoradas por termo higrômetros de máximos e mínimos, marca Incoterm, adequadamente calibrados.

2.3 Métodos analíticos

2.3.1 Análise de carotenoides totais expressos como bixina

As determinações dos carotenoides totais expressos em bixina foram realizadas segundo Carvalho *et al.*, (2010). que tem como princípio a extração da bixina por meio de solução alcalina, diluição da amostra com solução de hidróxido de potássio 0,5% e leitura da absorbância em espectrofotômetro à 453 nm. A concentração de pigmentos foi calculada utilizando um coeficiente



de absorção igual a 2850.

2.3.2 Análise de umidade

A determinação de umidade foi feita com base no método descrito por Bezerra *et al.*, (2019). Neste método, as sementes foram levadas para secagem em estufa ventilada a $110^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 12 horas, até peso constante. Os resultados de umidade foram calculados pela diferença entre as massas das amostras antes e após a secagem.

2.4 Análise de custo

Os custos envolvidos na estocagem durante as entressafras, utilizando as condições estudadas nesse projeto, foram avaliados. Foram considerados os investimentos em um galpão para a armazenagem das sementes à temperatura ambiente, em Big bags envasados a vácuo, com capacidade de 1000kg e em sacos de rafia com capacidade de 50kg. Foi calculado também os investimentos necessários para o armazenamento em uma câmara fria a -20°C de sacos de rafia com capacidade de 50kg. Além do investimento em infraestrutura foram considerados também os custos fixos e variáveis para as três situações.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises de carotenoides totais expressos como bixina ao longo dos 11 meses de armazenamento, para as embalagens e as condições estudadas.

Os resultados da análise de variância das concentrações de carotenoides totais expressos em bixina, das sementes de urucum envasadas em PET met/PE, armazenadas nas temperaturas de 25°C e -25°C e nas embalagens de Ráfia, armazenadas na temperatura de -25°C , indicaram que não houve diferença significativa ($p \leq 95\%$) no desempenho entre essas embalagens, no período e nas condições estabelecidas neste estudo. Contudo, estes resultados diferiram significativamente ($p \leq 95\%$) dos valores obtidos para a estabilidade dos pigmentos das sementes de urucum envazadas em sacos de Ráfia e armazenadas a 25°C .

Esses resultados foram similares aos observados por Carvalho *et al.*, (1993) que estudaram a estabilidade de um corante em pó de urucum (bixina) em embalagens com distintas taxas permeabilidades ao oxigênio. Segundo os autores, embalagens com taxas de permeabilidade ao oxigênio de até $42\text{cm}^3/\text{m}^2/\text{dia}$ conferiu adequada proteção aos pigmentos durante um ano de estocagem a 30°C e 90% de umidade relativa.



Tabela 1. Resultados das análises de carotenoides totais expressos como bixina nas sementes de urucum nas quatro condições de armazenamento.

Tempo (dias)	Bixina ¹ (g/100g) ²			
	PET met./PE ³	Ráfia ⁴	PET met./PE	Ráfia
	T = 25°C	T = 25°C	T = -25°C	T = -25°C
0	4,18 ± 0,02	4,18 ± 0,02	4,18 ± 0,02	4,18 ± 0,02
30	4,47 ± 0,02	3,97 ± 0,09	4,45 ± 0,02	3,99 ± 0,08
45	4,28 ± 0,03	3,97 ± 0,01	4,40 ± 0,06	4,13 ± 0,03
60	4,37 ± 0,22	3,92 ± 0,13	4,45 ± 0,21	4,35 ± 0,23
90	4,53 ± 0,03	3,85 ± 0,08	4,37 ± 0,06	4,37 ± 0,04
120	4,25 ± 0,01	3,35 ± 0,06	4,38 ± 0,12	4,29 ± 0,01
150	4,39 ± 0,12	2,88 ± 0,02	4,29 ± 0,08	4,48 ± 0,83
180	4,30 ± 0,12	2,83 ± 0,06	4,63 ± 0,01	4,43 ± 0,05
240	4,31 ± 0,14	2,63 ± 0,11	4,27 ± 0,01	4,17 ± 0,07
270	4,45 ± 0,01	2,59 ± 0,25	4,38 ± 0,07	4,32 ± 0,04
300	4,36 ± 0,01	2,32 ± 0,02	4,33 ± 0,16	4,22 ± 0,06
330	4,30 ± 0,01	2,07 ± 0,05	4,39 ± 0,01	4,29 ± 0,05

¹Carotenóides totais expressos como bixina; ²Média aritmética de, no mínimo, duas repetições analíticas simultâneas e independentes ± estimativa de desvio padrão; ³PET met./PE = embalagens de poli(tereftalato) de etileno metalizado laminado com polietileno (envasadas a vácuo); ⁴Ráfia = embalagens de polipropileno entrelaçado.

A Figura 4 apresenta o gráfico com as regressões lineares obtidas pelos dados das análises de carotenoides totais expressos em bixina das amostras de sementes de urucum para todas as embalagens e condições estudadas.

Os resultados das análises da regressão indicaram que não houve evidência de degradação significativa ($p \leq 95\%$) para as concentrações de carotenoides totais expressos em bixina, para as sementes de urucum envasadas em PET met/PE, armazenadas nas temperaturas de 25°C e -25°C e nas embalagens de Ráfia, armazenadas a -25°C. Contudo, houve degradação significativa ($p \leq 95\%$) desses pigmentos, nas sementes de urucum envasadas em sacos de Ráfia e armazenadas a 25°C. A equação da reta para a degradação da bixina nas sementes de urucum envasadas em sacos de Ráfia, armazenadas a 25°C está apresentada a seguir:

$$\text{Bixina (g/100g)} = -0,0065 \times \text{Dias} + 4,1937 \quad (R^2 = 0,9569)$$

O tempo de meia-vida dos pigmentos das sementes estocadas em sacos de Ráfia, armazenados a 25°C foi inferior de 334 dias, ou seja, em um período inferior a um ano há uma degradação de 50% dos pigmentos das sementes de urucum armazenados nessas condições.

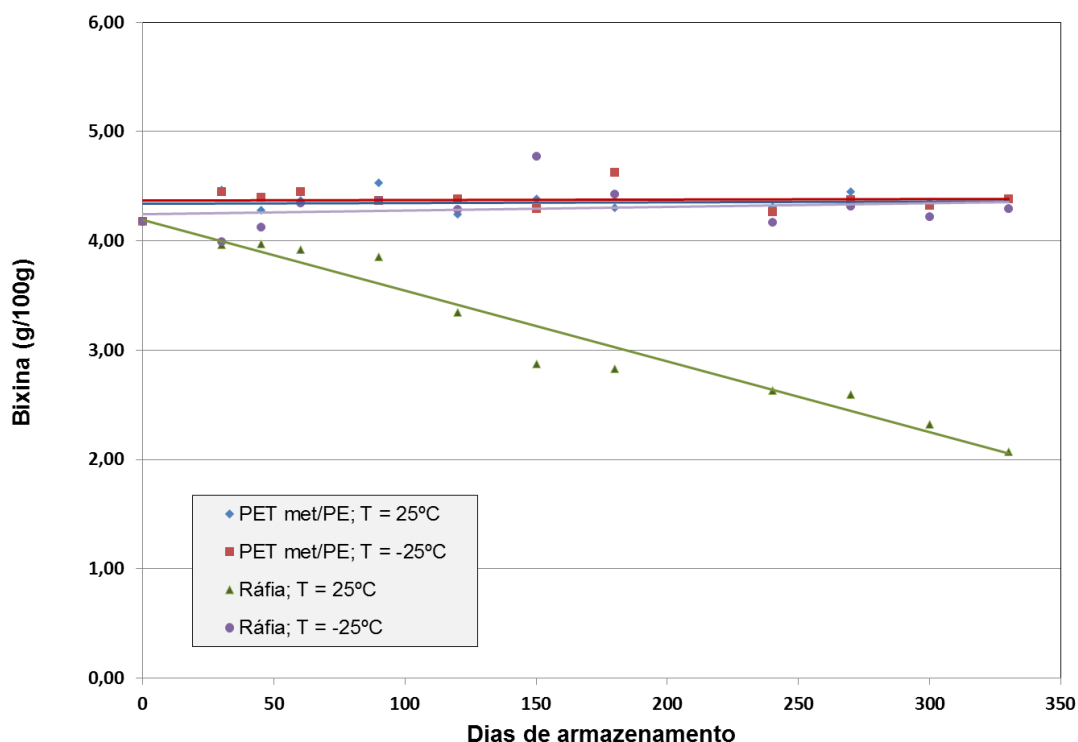


Figura 4. Regressão linear obtida pelos dados das análises de carotenoides totais expressos em bixina das amostras de sementes de urucum para todas as embalagens e condições estudadas.

Os resultados obtidos por esse projeto também permitem concluir que a temperatura de armazenamento tem influência significativa ($p \leq 95\%$) na estabilidade dos pigmentos das sementes de urucum, independente da taxa de permeabilidade ao oxigênio da embalagem utilizada. As sementes de urucum armazenadas a temperaturas de $-20^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ mantiveram a concentração de pigmentos durante todo o período do estudo, em ambas as embalagens estudadas.

Os resultados do estudo dos custos envolvidos na estocagem durante as entressafras, utilizando as condições estudadas nesse projeto indicaram os seguintes valores de investimento em infraestrutura: Armazenamento em Big bags com capacidade para 1000kg ou em sacos de ráfia de 50kg à temperatura ambiente: R\$ 145.000,00; Armazenamento em sacos de ráfia de 50kg à temperatura de -20°C : R\$ 200.000,00. Os custos anuais de armazenamento por tonelada de



sementes foram calculados em: Armazenamento em Big bags com capacidade para 1000kg, envasados a vácuo à temperatura ambiente: R\$ 380,00; Armazenamento em sacos de rafia de 50kg à temperatura ambiente: R\$ 273,00; Armazenamento em sacos de rafia de 50kg à temperatura -20°C: R\$ 892,00. Portanto, apesar da manutenção da concentração de pigmentos nas embalagens de rafia armazenadas a -20°C durante o período do estudo, os custos envolvidos nessa tecnologia superam em mais de duas vezes os valores para as demais condições.

4 CONCLUSÃO

O armazenamento das sementes de urucum em embalagens que as protegem da luz e da oxidação ou sob refrigeração a temperaturas inferiores a -20°C, permite a manutenção dos pigmentos desses grãos por um período compreendido entre as safras dessa cultura. O armazenamento tradicional em sacos de rafia, mantidos à temperatura ambiente ($T \geq 25^\circ\text{C}$) e expostos a uma iluminação superior a 1500 lux, pode degradar os pigmentos das sementes de urucum em até 50% em um período inferior a um ano. Os custos anuais envolvidos no armazenamento de sementes em sacos de rafia sob refrigeração a -20°C superam em mais de duas vezes os valores calculados para as demais condições.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida ao primeiro autor. Agradecem também a pesquisador José Gasparino Filho do Centro de Tecnologia de Frutas e Hortaliças (Fruthotec), do ITAL, pela contribuição nas análises dos custos envolvidos nos processos estudados.

6 REFERÊNCIAS

- BARET, A.; STROHMAR, W.; KITZELMANN, E. HPLC and spectrophotometric determination of annatto in cheese. **Eur. Food Res. Technol.** v. 215, p. 359-364, 2002.
- BEZERRA, B. M. A.; TAVARES, P. E. R.; SILVA, M. G.; CARVALHO, P. R. N. Colorau 100% urucum. In: **Anais do 13º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2019**. Campinas – SP. 12p.
- CAMARGO, R.; CARVALHO, M. L. M. Armazenamento a vácuo de semente de milho doce. **Rev. Bra. Sem.** v. 30, n. 1, p. 131-139, 2008.
- CARVALHO, P. R. N. Conheça o Urucum. **O urucum: uma semente com a nossa história**. Campinas, 2017. Disponível em: < <https://www.ourucum.com.br/> >. Acesso em: 27 jan. 2020.
- CARVALHO, P. R. N.; HEIN, M. Urucum – Uma fonte de corante natural. **Colet. Ital.** v.19, n. 1, p. 25 – 33, 1989.
- CARVALHO, P. R. N.; SARANTÓPOULOS, G. L.; SHIROSE, I.; DA SILVA, M. G. Estudo de vida-de-prateleira do corante (Bixina) extraído das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). **Colet. Ital.** v. 23 , n. 1, p. 98-104, 1993.



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.

GIRIDHAR, P.; VENUGOPALAN, A.; PARIMALAN, R. A review on annatto dye extraction, analysis and processing – A food technology perspective. **J. Sci. Res. Rep.** v. 3, n. 2, p. 327-348, 2014.

IBGE - **Tabela 1613 - Área destinada à colheita, área colhida, quantidade produzida, rendimento médio e valor da produção das lavouras permanentes**. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613>. Rio de Janeiro, RJ. Acessado em 03/03/2017.

McKEOWN, G. G. e MARK, E. The composition of oil-soluble annatto food colors. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.** v. 45, n. 3, p. 761-766, 1962

MONTENEGRO, M. A.; RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z.; NAZARENO, M. A.; BORSARELLI, C. D. Model studies on the photosensitized isomerization of bixin. **J. Agric. Food Chem.** v. 52, p. 367–373, 2004.

NAJAR, S. V.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Effects of light, air, antioxidants on annatto extracts (*Bixa orellana*). **Food Chem.** v. 29, p.283-289, 1988.

RIOS, A. O.; MERCADANTE, A. Z. Novel method for determination of added annatto colour in extruded corn snack products. **Food Add. Cont.** v. 1, n. 2, p. 125-133, 2004.

SCOTTER, M. The Chemistry and analysis of annatto food colouring: a review. **Food Add. Cont.** v. 26, n. 8, p.1123-1145, 2009.

STEINHAUSER, E. R. **Ecodesign de bolsas: um projeto de upcycling a partir de sacos de rafia para comunidades artesanais de Blumenau**. (Tese mestrado em Design) - UNIVILLE, Joinville, 2016, 111p.

TOCCHINI, L.; MERCADANTE, A.Z. Extração e determinação, por CLAE, de bixina e norbixina em coloríficos. **Ciênc. . Technol. Aliment.** v. 21, n.3, p. 310-313, 2001.