



I. ESTUDO FITOQUÍMICO DAS SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana* L). - II. ESTABILIDADE DA FRAÇÃO INSAPONIFICÁVEL DO ÓLEO DE URUCUM.

Laís Helena Marques **Cunha**¹; Eliane Gomes **Fabri**²; Marta Gomes da **Silva**³; Antonio Lúcio Mello **Martins**⁴; Paulo Roberto Nogueira **Carvalho**⁵.

Nº 16226

RESUMO - As sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) são conhecidas por apresentarem em sua composição um pigmento de cor vermelha muito utilizado em alimentos. O principal pigmento do urucum é a bixina, um carotenoide encontrado na superfície das sementes. Contudo, os grãos também possuem outros componentes de grande interesse comercial como o geranilgeraniol e o tocotrienol. Esse artigo apresenta os resultados de dois estudos: o primeiro buscou avaliar a evolução da concentração de pigmentos, geranilgeraniol e tocotrienóis nas sementes de urucum durante o desenvolvimento e maturação do fruto. O segundo estudou o comportamento de geranilgeraniol e tocotrienóis da fração insaponificável do óleo de sementes de urucum durante o armazenamento em três temperaturas [-20°C (\pm 2°C), 10°C (\pm 2°C) e 25°C (\pm 2°C)].

Os resultados indicaram que houve uma diminuição da concentração de pigmentos (em base seca) durante toda a maturação e secagem dos frutos ocasionada, inicialmente, pelo aumento da massa das sementes e pela perda da umidade dos grãos nas últimas amostragens. A evolução das concentrações de geranilgeraniol e tocotrienóis nas sementes de urucum apresentou comportamento similar, com um aumento da concentração até o início da formação do fruto e degradação durante o período de perda de umidade com a secagem das cachopas. Não foi observada degradação significativa na concentração de geranilgeraniol na fração insaponificável do óleo de urucum nas condições e períodos de estocagem utilizados nesse estudo. O tocotrienol apresentou degradação significativa para as condições de armazenamento a 25°C (\pm 2°C).

Palavras-chaves: Urucum, geranilgeraniol, tocotrienol, estabilidade.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Química, PUC, Campinas-SP; laishelena.20@gmail.com

2 Colaborador, Pesquisadora do Instituto Agrônomo, Campinas-SP.

3 Colaborador, Pesquisadora do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas - SP.

4 Colaborador, Pesquisador do Polo Regional Centro Norte, Pindorama - SP.

5 Orientador: Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas - SP; carvalho@ital.sp.gov.br.



ABSTRACT – *The annatto (*Bixa orellana* L.) seeds are known for presenting in its composition a red pigment widely used in food. The main annatto pigment is bixin, a carotenoid found on surface of annatto seed, but these grains also have other components of commercial interest as geranylgeraniol and tocotrienol. This article presents the results of two studies: the first proposes a assessment of the evolution of pigment, geranylgeraniol and tocotrienol concentrations in annatto seeds during development and maturation of the fruit. The second study present the degradation of geranylgeraniol and tocotrienol in the unsaponifiable matter of annatto seed oil stored in three temperatures [-20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), 10°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$)].*

The results indicated that there is a significant decrease in the concentration of pigment (in dry base) throughout maturation and drying of the fruit, initially caused by increase of seed mass and moisture loss in the grain in the last sampling. The evolution of the concentrations of geranylgeraniol and tocotrienol in annatto seeds presented similar behavior, with an increased concentration until the fruit formation and degradation during the drying of the fruit. There was no significant degradation in geranylgeraniol concentration in the unsaponifiable matter of annatto oil in the conditions and storage periods used in this study. Tocotrienol presented significant degradation at 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$).

Keywords: Annatto, geranylgeraniol, tocotrienol, stability.

1 INTRODUÇÃO

O urucum (*Bixa orellana* L.) é uma bixácea originária da América tropical que vem conquistando espaço no mercado agrícola mundial (JOLY, 2002). Sua principal característica é ter um pericarpo rico em bixina, um pigmento do grupo dos carotenoides. Os corantes obtidos dos pigmentos das sementes de urucum têm grande aceitação no mercado internacional, em particular na área alimentícia (FRANCO, 2008). O urucum pertence à família Bixaceae, que possui um único gênero *Bixa* e uma única espécie *orellana*, nome recebido em homenagem a Francisco Orellana, primeiro europeu a navegar o Amazonas (SILVA & FRANCO, 2000; MULLER, 1988; ENGELHARDT *et al.* 1988).

O ciclo de vida em plantas superiores envolve o desenvolvimento de uma semente seguido por sua germinação e o desenvolvimento pós-germinativo através do crescimento da planta.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Ambos são marcados por eventos fisiológicos específicos relacionados às mudanças no peso fresco, peso seco e conteúdo de água (CASTRO *et al.*, 2004).

As maturidades fisiológicas para cada espécie variam de acordo com suas características, com base nas mudanças morfológicas, bioquímicas e fisiológicas que ocorrem durante o desenvolvimento do fruto e/ou da semente e o entendimento deste processo dentro do habitat natural da espécie que, além de permitir estabelecer o ponto de maturidade fisiológica da semente, auxiliam na avaliação da extensão de sua deterioração em condições de campo (AGUIAR *et al.*, 1993; BARBEDO *et al.*, 1994).

O geranilgeraniol é encontrado na parte externa das sementes de urucum com teores próximos a 1% (COSTA & CHAVES, 2005; STRINGHETA & SILVA, 2008). O geranilgeraniol é conhecido como um intermediário de biossínteses importantes, como a da vitamina K, de tocoferóis e tocotrienóis, de diversos hormônios e carotenoides (JONDIKO & PATTENDEN, 1989).

Os tocotrienóis são substâncias que apresentam grande atividade antioxidante e fazem parte das substâncias com atividade vitamínica E. No óleo de urucum, os tocotrienóis são formados predominantemente pelas formas gama e delta-tocotrienol, com esse último podendo alcançar uma concentração superior a 90% das formas presentes. Os tocotrienóis apresentam-se como um óleo viscoso, inodoro, de coloração avermelhada e são praticamente insolúveis em água e solúveis em óleo vegetal e solventes apolares (SEM *et al.* 2007).

Esse estudo realizou uma avaliação preliminar da evolução da concentração de pigmentos, geranilgeraniol e tocotrienóis durante a maturação e secagem dos frutos do urucum durante a safra de janeiro e fevereiro de 2016, conhecida como safrinha. Para isso foram colhidos frutos periodicamente, até atingir a maturidade máxima de colheita, estabelecida pela secagem dos frutos. Foi conduzida, em paralelo ao estudo anterior, uma avaliação da degradação de geranilgeraniol e tocotrienóis na fração insaponificável do óleo de urucum armazenado em três condições de estocagem com temperaturas de -20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), 10 °C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e 25 °C ($\pm 2^\circ\text{C}$).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

As sementes de urucum utilizadas nesse estudo foram provenientes da coleção do Instituto Agrônomo mantida na Apta Regional Centro Norte, em Pindorama – SP. Para o estudo foi selecionado um dos acessos, identificado como “Acesso 24, Planta 2” que, em ensaios anteriores, apresentou bons teores das substâncias estudadas (carotenoides, geranilgeraniol e tocotrienol). A



planta caracteriza-se por apresentar cachopas de formato ovoide, bicarpelar, na cor verde (Figura 1) e uma média de 45 sementes por cachopa. Frutos da planta selecionada foram periodicamente amostrados durante sua maturação e encaminhadas para o laboratório de Corantes Naturais do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). As amostras foram identificadas como: Início de formação do fruto; Frutos marcados, 25 dias; 30 dias; 45 dias; Início da secagem dos frutos e Frutos secos. No ITAL os frutos foram pesados e as sementes foram separadas manualmente, transferidas para frascos de vidro e armazenadas ao abrigo da luz e sob-refrigeração, até o momento dos ensaios.



Figura 1. Fotografia típica das cachopas e sementes da planta utilizada nesse estudo.

No estudo de estabilidade da fração insaponificável das sementes de urucum foi utilizada uma amostra da fração insaponificável do óleo de urucum obtida junto a uma empresa da região de Campinas e caracterizada quanto à concentração de umidade, geraniolgeraniol e tocotrienóis. O material insaponificável foi transferido para frascos de vidro com 10 ml de capacidade e armazenado em duas câmaras marca Eletrolab Modelo 131FC à temperaturas de $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e em um freezer marca Cònsul, 280L à temperaturas de $-20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.



2.2 Métodos

2.2.1 Tamanho, comprimento e massas das sementes

As medidas de tamanho e comprimento das sementes foram realizadas utilizando um paquímetro e uma amostra de 5 sementes, tomadas ao acaso de cada período estudado. As massas médias de cada grão foram obtidas a partir de uma amostra de 50 sementes.

2.2.2 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.

2.2.3 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 éter etílico:éter de petróleo:acetato de etila (60:30:05). Após eliminação do solvente de extração, o extrato foi diluído em n-hexano. A quantificação foi realizada por cromatografia líquida em fase reversa com detector de arranjo de diodos a 210 nm.

2.2.4 Tocotrienóis

O método analítico para a determinação de tocotrienóis teve como princípio a diluição do material insaponificável 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

3.1 Estudo do desenvolvimento e maturação das sementes de urucum.

A Tabela 1 apresenta características das sementes de cada amostragem. A Figura 2 apresenta a evolução das dimensões e massa das sementes nas diferentes fases amostradas.



Tabela 1. Características das sementes de cada amostragem realizada nesse estudo.

AMOSTRA	Largura (mm)			Comprimento (mm)			Massa ⁽⁴⁾ (mg)
	$\bar{x}^{(1)}$	s ⁽²⁾	T ⁽³⁾	\bar{x}	s	T	
Início de formação dos frutos	2,48	0,30	d	4,25	0,34	d	12,05
Fruto marcado	3,82	0,71	bc	5,12	0,37	bcd	20,67
25 Dias	4,54	0,24	ab	6,12	0,36	a	49,00
30 Dias	4,72	0,31	a	6,16	0,65	a	52,60
45 Dias	4,46	0,27	ab	5,90	0,45	ab	56,82
Início de secagem dos frutos	4,32	0,16	abc	5,34	0,40	abc	52,19
Frutos secos	3,70	0,31	c	4,74	0,17	cd	38,02

⁽¹⁾ Média aritmética de cinco repetições; ⁽²⁾ Estimativa de desvio padrão; ⁽³⁾ Teste de Tukey. As médias na mesma coluna, seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$). ⁽⁴⁾ Massa média por grão, obtidos a partir de 50 sementes.

Segundo Lima (2005), durante a maturação há diversas transformações nas características do fruto, como tamanho, forma, cor, teor de água, etc. até a paralização da translocação das substâncias reservas da planta para os grãos. Nesse trabalho as dimensões das sementes variaram, apresentando crescimento até os 30 dias da formação do fruto e decrescendo após esse período, principalmente pela perda da umidade dos grãos. As massas das sementes seguiram o mesmo padrão da dimensão com um aumento de peso até 45 dias do início da formação dos frutos, diminuindo até o final do estudo. Essa perda de massa se deve principalmente à diminuição da umidade.

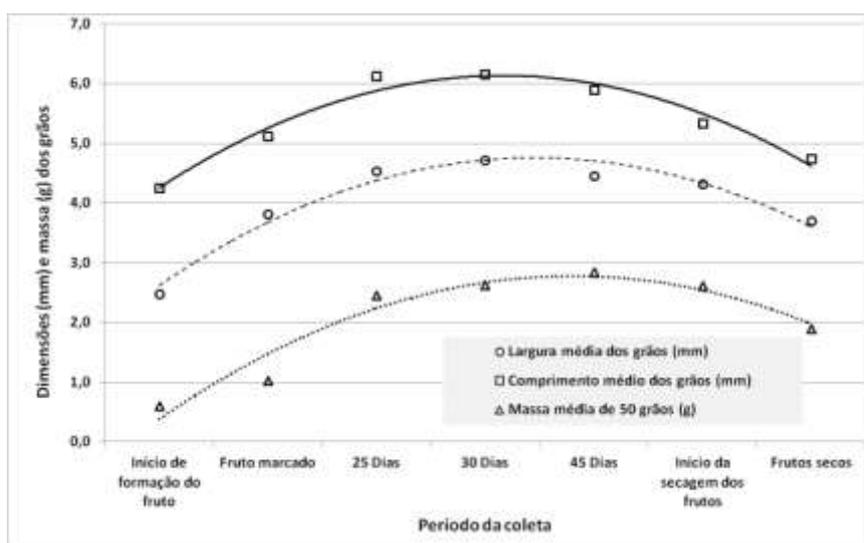


Figura 2. Evolução das dimensões das sementes durante o desenvolvimento e secagem dos frutos de urucum.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises de umidade, carotenoides totais (expressos como bixina), geranilgeraniol e tocotrienol em sementes de urucum colhidas durante o desenvolvimento e maturação do fruto.

No estudo de Lima (2005), a umidade das sementes foi em média 83% após 14 dias da antese, variando entre 85,1% e 81,2% no período compreendido entre 21 e 42 dias da antese. Esses valores são bem próximos aos valores observados nesse estudo para as amostragens de início da formação dos frutos e 25 dias após suas marcações. A Figura 3 apresenta a evolução da umidade nas sementes durante a maturação e secagem dos grãos.

No estudo de Lima (2005) o teor de pigmentos nas sementes de urucum permaneceu constante entre 0,64% e 0,68% entre 35 e 56 dias da antese. Aos 70 dias da antese a concentração de pigmentos foi de 0,88% e de 1,61% aos 77 dias. Nesse estudo, o teor de carotenoides totais expressos como bixina variou, em base úmida, entre 0,67% para a amostragem no início da formação dos frutos e 1,91% para as sementes extraídas dos frutos secos. Quando calculado em base seca, o maior valor foi observado na amostragem de 25 dias (6,77%) e o menor valor no fruto seco (2,50%). Exceto os resultados referentes ao “fruto marcado”, quando o valor observado foi bastante elevado, observa-se que a concentração de pigmentos em base seca decresce continuamente até o final do estudo (Figura 4). Isso se deve possivelmente ao aumento das massas das sementes durante o desenvolvimento dos frutos sem o correspondente aumento dos pigmentos carotenoides e a perda por degradação provocada pela exposição das sementes ao ambiente, causada pela deiscência dos frutos do acesso estudado.

Pela primeira vez é apresentada a evolução da concentração de geranilgeraniol e tocotrienol durante o desenvolvimento e maturação de sementes de urucum. A concentração de geranilgeraniol apresenta uma diminuição constante durante as diferentes fases amostradas (Figura 4). Assim como observado para os pigmentos, essa diminuição deve ser função do aumento da massa das sementes, ou seja, uma maior massa vegetal com a mesma concentração de geranilgeraniol resulta em uma menor concentração dessa substância. No final do estudo a diminuição da concentração de geranilgeraniol pode estar associada à exposição das sementes ao ambiente, causada pela deiscência dos frutos do acesso estudado. A exceção foi a amostra de 30 dias que, fugindo do padrão observado para as demais, apresentou a maior concentração (1,97%). Esses valores ficaram dentro da faixa observada por Carvalho et al (2016) que, avaliando sementes da coleção de urucum do Instituto Agrônomo encontrou uma concentração de geranilgeraniol que variou entre 0,49% a 2,62%.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

Tabela 2. Resultados das análises de umidade, carotenoides totais (expressos como bixina), geranilgeraniol e tocotrienol em sementes de urucum colhidas durante o desenvolvimento e maturação do fruto (expressos em base seca).

AMOSTRA	Umidade			Bixina ⁽¹⁾ (g/100g)			GG ⁽²⁾ (g/100g)			γ -TT ⁽³⁾ (g/100g)			δ -TT (g/100g)			TT-Totais (g/100g)	
	\bar{x} ⁽⁴⁾	s ⁽⁵⁾	T ⁽⁶⁾	\bar{x}	s	T	\bar{x}	s	T	\bar{x}	s	T	\bar{x}	s	T	\bar{x}	s
Início de formação dos frutos	85,6	5,7	a	4,69	0,08	b	1,29	0,05	b	0,07	0,01	c	0,30	0,07	bc	0,39	0,08
Fruto marcado	88,6	0,1	a	6,77	0,09	a	0,97	0,01	c	0,08	0,01	c	0,43	0,01	a	0,53	0,01
25 Dias	79,2	1,7	ab	4,08	0,09	c	1,23	0,03	b	0,12	0,01	a	0,46	0,01	a	0,58	0,01
30 Dias	75,9	0,6	b	3,41	0,14	de	1,97	0,03	a	0,09	0,01	bc	0,37	0,02	ab	0,47	0,02
45 Dias	76,1	0,5	b	3,78	0,03	cd	1,02	0,03	c	0,11	0,01	ab	0,42	0,01	a	0,53	0,01
Início de secagem dos frutos	46,7	5,0	c	3,08	0,18	e	0,71	0,05	d	0,08	0,01	c	0,25	0,04	c	0,33	0,04
Frutos secos	23,8	3,4	d	2,50	0,10	f	0,71	0,02	d	0,07	0,01	c	0,29	0,01	bc	0,36	0,01

⁽¹⁾ carotenoides totais (expressos como bixina); ⁽²⁾ GG = Geranilgeraniol; ⁽³⁾ TT = Tocotrienóis; ⁽⁴⁾ \bar{x} = Média aritmética; ⁽⁵⁾ s = estimativa de desvio padrão; ⁽⁶⁾ T = Teste de Tukey. As médias na mesma coluna seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

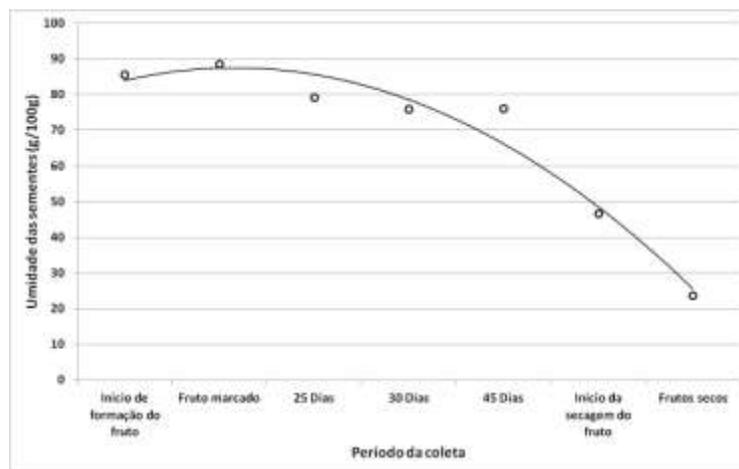


Figura 3. Evolução da umidade nas sementes durante o desenvolvimento e secagem dos frutos.



A concentração de tocotrienóis apresentou um acréscimo durante os primeiros 25 dias do início de formação do fruto, com um máximo de 0,58% (em base seca), seguido de uma diminuição no período restante do estudo (Figura 4). Essa degradação também pode ser creditada à exposição das sementes ao ambiente, causada pela deiscência dos frutos do acesso estudado. Os valores observados também ficaram dentro da faixa observada por Carvalho et al (2016) que avaliando amostras das sementes da coleção de urucum do Instituto Agrônomo encontrou uma concentração de tocotrienol que variou entre 0,25% a 1,41%.

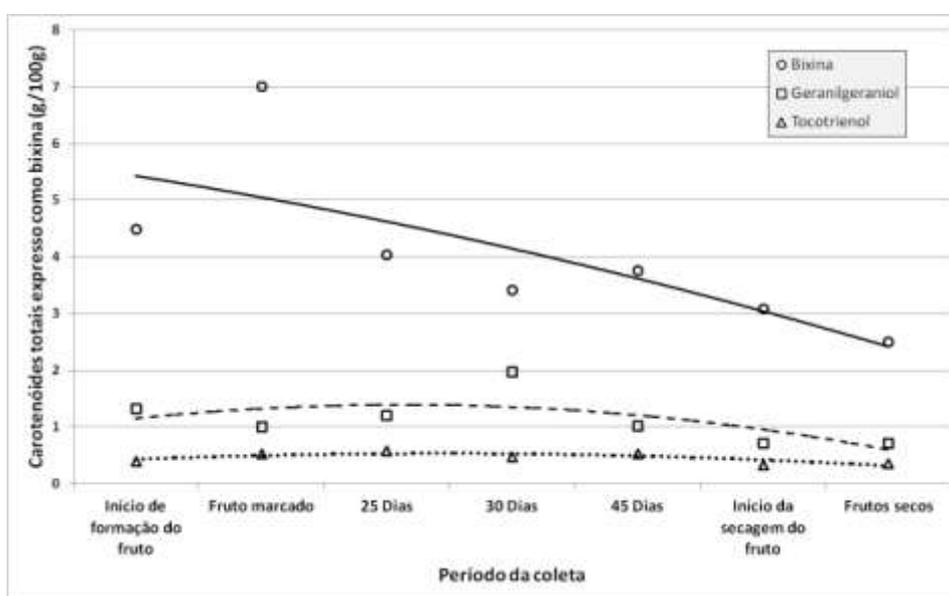


Figura 4. Evolução da concentração de carotenóides totais (expressos como bixina), geranilgeraniol e tocotrienóis, nas sementes de urucum durante o desenvolvimento e secagem dos frutos.

3.2 Estudo da degradação da fração insaponificável do óleo de urucum.

A Tabela 3 apresenta a composição da fração insaponificável do óleo de urucum utilizado nesse estudo.

Tabela 3. Composição da fração insaponificável do óleo de urucum utilizado nesse estudo.

Componente	Concentração (g/100g)
Geranilgeraniol	27,6 (0,1)
Tocotrienóis Totais	6,5 (0,1)
Umidade	41,3 (1,2)
Outros ¹	24,6

¹Outros (Pigmentos, Fitosteróis, álcoois graxos, terpenos, ceras, etc.)



A Tabela 4 e a Figura 5 apresentam os resultados das análises de Geranilgeraniol e Tocotrienóis nos diversos períodos do estudo. As análises de variância das regressões indicaram que não houve variação significativa ($p \leq 0,05$) na concentração de geranilgeraniol durante os 180 dias de armazenamento em nenhuma das condições estudadas. Na avaliação dos resultados das análises de tocotrienóis alguns valores foram estabelecidos como “outlayers” e descartados (todos os resultados para 60 dias de armazenamento, os resultados das amostras de -20°C e 10°C para 150 dias de armazenamento e para a amostra de 25°C para 180 dias de armazenamento). As análises de variância da regressão linear indicaram que houve uma degradação significativa ($p \leq 0,05$) apenas para o tocotrienol armazenado a 25°C .

Tabela 4. Resultados das análises de Geranilgeraniol e Tocotrienóis nos diversos períodos do estudo de estabilidade da fração insaponificável de urucum.

Condições de estocagem	Período (Dias)	Geranilgeraniol (g/100g)		γ -Tocotrienol (g/100g)		δ -tocotrienol (g/100g)		Tocotrienol Total (g/100g) ⁽³⁾
		\bar{x} ⁽¹⁾	s ⁽²⁾	\bar{x}	s	\bar{x}	s	
-20°C	0	27,59	0,06	0,71	0,02	5,77	0,05	6,48
	30	32,10	1,97	0,71	0,04	5,68	0,24	6,39
	60	24,92	0,31	0,68	0,04	8,02	0,08	8,70
	90	25,63	0,19	0,57	0,02	5,14	0,14	5,71
	120	27,25	0,12	0,57	0,01	4,75	0,34	5,32
	150	28,73	0,59	0,60	0,04	6,51	0,20	7,10
	180	27,21	0,09	0,49	0,01	5,13	0,08	5,63
10°C	0	27,59	0,06	0,71	0,02	5,77	0,05	6,48
	30	37,70	4,94	0,89	0,10	6,07	1,05	6,97
	60	23,86	2,51	0,71	0,04	7,98	0,63	8,69
	90	25,79	0,53	0,57	0,01	5,01	0,26	5,58
	120	27,36	0,09	0,55	0,00	4,45	0,15	5,00
	150	19,03	0,22	0,31	0,05	3,21	0,20	3,51
	180	27,06	0,16	0,42	0,01	5,47	0,23	5,90
25°C	0	27,59	0,06	0,71	0,02	5,77	0,05	6,48
	30	33,20	2,69	0,77	0,08	5,75	0,89	6,52
	60	22,85	3,84	0,71	0,10	8,14	0,93	8,84
	90	25,68	0,44	0,54	0,00	5,02	0,21	5,56
	120	27,27	0,02	0,55	0,02	4,54	0,13	5,09
	150	28,30	0,26	0,46	0,00	4,75	0,34	5,21
	180	28,23	1,16	0,43	0,03	5,02	0,84	5,45

⁽¹⁾ = Média aritmética de, no mínimo, duas repetições analíticas; ⁽²⁾ = s = estimativa de desvio padrão. ⁽³⁾ soma de γ -tocotrienol e δ -tocotrienol

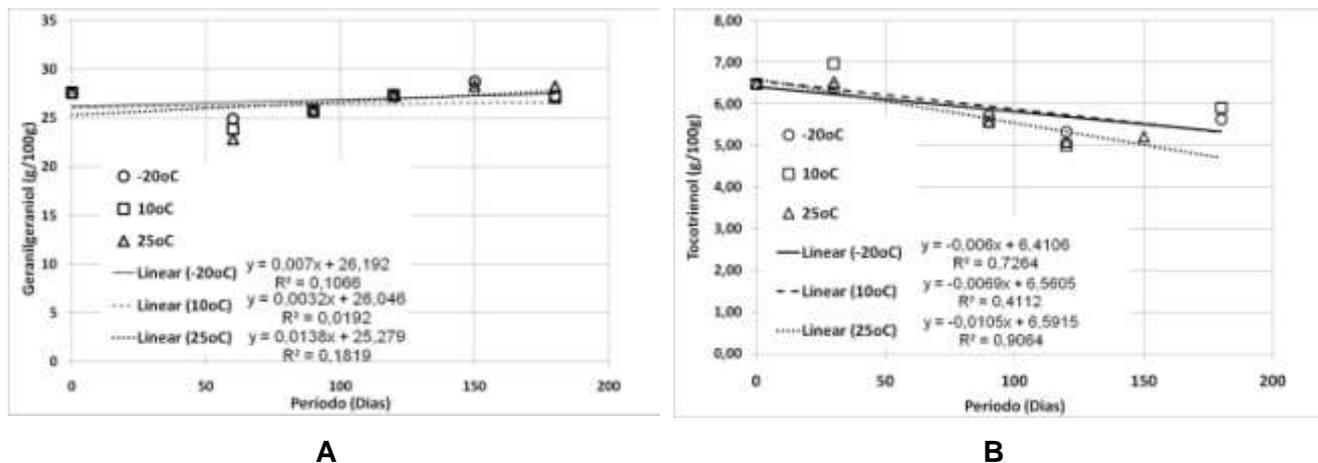


Figura 5. Gráficos do estudo de estabilidade do Geranylgeraniol (A) e Tocotrienol (B) da fração insaponificável do óleo de urucum.

4 CONCLUSÃO

Quando avaliada em base seca, a concentração de carotenoides nas sementes de urucum apresentou diminuição durante todas as etapas do estudo. Essa evolução foi creditada ao aumento de massa das sementes sem um aumento correspondente dos pigmentos carotenoides. A evolução das concentrações de geranylgeraniol nas sementes de urucum apresentou comportamento similar. A concentração de tocotrienol apresentou um aumento até os primeiros 25 dias, seguido de uma diminuição no período restante do estudo. Recomenda-se a continuidade do estudo com maior número de acessos e durante a principal safra dessa cultura que ocorre entre o período de junho e agosto.

Não foi observada degradação significativa na concentração de geranylgeraniol na fração insaponificável do óleo de urucum durante o período do estudo, nas condições de estocagem utilizadas nesse estudo. Os tocotrienóis sofreram degradação significativa ($p \leq 0,05$) durante 150 dias de armazenamento a 25°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Não houve degradação significativa ($p \leq 0,05$) dessas substâncias nos armazenamento a 10°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e -20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$).

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida à primeira autora.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes Florestais Tropicais**, Brasília: ABRATES, 1993. 350p.



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W.; BARBEDO, C.J.; NACAGAWA, J. Efeitos da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos sobre a qualidade de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, v.12, n.1, p.14-18, 1994.

CARVALHO, P. R. N.; DA SILVA, M. G.; TAVARES, P. E. R.; FABRI, E. G.; MARTINS, A. L. M. Concentração de lípidos, carotenoides totais, geranilgeraniol e tocotrienol em diferentes acessos de urucum (*Bixa orellana* L.) da coleção do Instituto Agrônomo (IAC). Campinas, v. 1, n. 2, p1-12, 2016. Disponível em: www.ourucum.com.br/REFERENCIAS-BIBLIOGRAFICAS; Acesso em 23/06/2016.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: ARTMED, 2004. p. 51-67.

COSTA, C. L. S.; CHAVES, M. H. Extração de pigmentos das sementes de *Bixa orellana* L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p.149-152, 2005.

ENGELHARDT, J.; ROED, B. L.; DIDRIKSEN, C. Annatto the natural color of choice in modern food industry. **Natcol. Quart. Inf. Bull.**, v.2, p.4-10, 1988.

FRANCO C. F. O. Corantes naturais de urucum (*Bixa orellana* L.) no tratamento da hiperlipidemia em animais e câncer em animais. 2008. 193p. (Pós-Doutorado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 2008.

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

JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002, 777 p.

JONDIKO, I. J.; PATTENDEN, G. Terpenoids and an apocarotenoid from seeds of *Bixa orellana*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 11, p. 3159-3162, 1989.

LIMA, R. V. **Avaliação das características físicas e biológicas das sementes de urucum c.v. casca verde durante o desenvolvimento da maturação fisiológica**. Dissertação para a obtenção do título de Mestre da Universidade Federal do Espírito Santo. 2005, 85p.

MULLER, G. The legal situation relating to the colouring of foodstuffs in the federal Republic of Germany. **Natcol. Quart. Inf. Bull.**, v.3, p.4-8, 1988.

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.

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, F. C. P.; FRANCO, C. F. **O.Urucuzeiro uma alternativa de agronegócio**. João Pessoa: EMEPA-PB, 2000, 15p.

SILVA, M.G.; LUIZ, F.A.; da ROCHA, F.W.; LEAL, R.N.; CARVALHO, P.R.N. Validação de método analítico de determinação de geranilgeraniol em sementes de urucum. In: **Anais da 2º 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.

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.