MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU

JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY

# GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

**Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA**
**1990 -1995**

00326

Geração de tecnologia
1996 LV-2005.00326

30936-1

Belém, PA
1996

ISSN 0101-2835

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU

JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY

# GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

**Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA**
**1990-1995**

Belém, PA
1996

EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:
EMBRAPA - CPATU
Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
Telefones: (091) 226 - 6612, 226 - 6622
Telex: (91) 1210
Fax: (091) 226 - 9845
Caixa Postal, 48
66095 - 100 - Belém, PA

Tiragem: 200 exemplares

Unidade: AI-Sede
Valor aquisição:
Data aquisição:
N.º N. Fiscal/Fatura:
Fornecedor:
N.º OCS:
Origem: Doação
N.º Registro: 326/05

**Comissão Editorial**
Coordenação: Célio Francisco Marques de Melo
Dilson Augusto Capucho Frazão
Francisco José Câmara Figueirêdo

Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos
Composição: Ana Mirtes Maciel Fouro
Paulo Sérgio Oliveira
Silvia Helena Carneiro Matos
Vitor Guilherme de Sousa
Capa: Euclides Pereira dos Santos Filho

EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). **Geração de tecnologia agroindustrial para o desenvolvido do trópico úmido.** Belém: EMBRAPA - CPATU / JICA, 1996. p. 305 (EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85).

Convênio EMBRAPA - CPATU / JICA

1. Agroindústria - Tecnologia - Brasil - Amazônia.
I. Titulo. II. Série

CDD: 630.720811
© EMBRAPA - 1996

# ESTUDO PARA IDENTIFICAÇÃO DE VEGETAIS PRODUTORES DE CORANTES, OCORRENTES NA FLORA AMAZÔNICA

Raimunda Fátima Ribeiro de Nazaré[1]
Sérgio de Mello Alves[2]
Wilson Carvalho Barbosa[2]
Irenice Alves Rodrigues[1]
Lênio José G. Faria[3]
Keiko Kusuhara[4]

**Resumo:** O projeto propõe, inicialmente, executar a extração, purificação e identificação de corantes naturais de matérias-primas ocorrentes na flora amazônica, e, em seguida, estabelecer técnicas e procedimentos para a produção de corantes naturais em escala piloto (corante de urucu), bem como a realização de testes laboratoriais com a aplicação dos corantes obtidos, com vistas ao emprego em alimentos e em outros produtos de consumo que possam ser utilizados pelo homem. Durante os três anos de atividades, o projeto composto de quatro experimentos (urucu, açaí, cará-roxo e jenipapo), forneceu informações sobre a qualidade de progênies de urucu (*Bixa orellana*), sob o aspecto de produção do corante bixina, para ensaios de melhoramento genético, conduzidos pelo CPATU, nos municípios de Capitão Poço e Tracuateua, Estado do Pará. Realizaram-se extração, concentração e quantificação dos corantes de frutos de açaí (*Euterpe oleracea*) e de tubérculos de cará-roxo (*Dioscorea alata*). De acordo com análise por HPLC, o extrato colorido de açaí possui dois corantes (antocianinas) e o de cará-roxo, apenas um (também antocianina). O quarto experimento, com frutos de jenipapo (*Genipa americana*) foi paralisado, aguardando resultados de análises feitas no Japão, pela consultora da JICA, Drª Keiko Kusuhara. Os corantes já isolados (de açaí e de cará-roxo) foram testados para colorir bombons do tipo "bala soft", com excelentes resultados.

[1] Farm. Biol. M.Sc. EMBRAPA-CPATU. Caixa Postal 48, CEP 66.017-970. Belém, PA.
[2] Quim. Ind. M.Sc. EMBRAPA-CPATU.
[3] Quim. Ind. M.Sc. UFPa. Rua Augusto Correa nº 1, CEP 66.075-900. Belém, PA.
[4] Consultor da Japan International Cooperation Agency - JICA. Av. Nazaré 272, Sala 105. Ed. Clube de Engenharia, CEP 66.035-170, Belém - PA.

# STUDY TO IDENTIFY DYE-PRODUCING PLANTS IN AMAZONIAN FLORA

**Abstract:** Given the prohibition by European countries, the USA and Japan, on the use of synthetic colorings in products for general consumption, in particular foodstuffs, industries in these contries are currently facing a serious problem in finving substitutes for these products. The restriction placed on artificial colorings is based on research results pointing to the possibility that some of these products may potentially cause cancer, and in fact, when tested, this possibility has been confirmed. The objective of this study is to investigate species within the Amazonian flora that contain natural colorings, that may substitute synthetics, and to evaluate the applications of the dye obtained, for food dye and other uses. The project initially proposes to conduct extraction, purification and identification of natural dyes from raw material existing within Amazonian flora. Secondly, it proposes to establish techniques and procedures for the production of natural dyes on a pilot scale (urucu dye), as well as laboratory tests on the application of the dyes obtained, seeking their utilization in foodstuffs and other products consumed and utilized by humans. During three years of activities, this project, with four experiments annatto, açaí, cará-roxo and jenipapo), has provides information on progeny quality of annatto seeds (Bixa orellana), about bixin production, from trials of genetic improvment in Capitão Poço and Tracuateua, both in the State of Pará. Extraction, concentration and quantification of açaí fruits (Euterpe oleracea) and cará-roxo (Dioscorea olata) roots wise made. Using HPLC analysis, açaí collored extract showed two collored compounds (antocianins) and cará-roxo extract had only one (antocianin). The fourth experiment, with jenipapo fruits (Genipa americana) is, waiting for analysis results from Japão, by JICA's expert Drª Keiko Kusuhara. The isolateds natural dyes (from açaí and cará-roxo) were used to color candies of **hard candies** type with gave excelent results.

## Objetivo

Investigar na flora amazônica espécies possuidoras de corantes naturais, com possibilidades de se tornarem sucedâneos dos sintéticos, e avaliar a aplicação dos corantes obtidos para colorir produtos alimentícios e outros.

## Justificativa

Dada à proibição por parte dos países europeus, EUA e Japão, da aplicação de corantes sintéticos em produtos de consumo geral, especialmente alimentos, as indústrias enfrentam atualmente um sério problema na conquista de substitutos para esses produtos. A restrição feita aos corantes artificiais é baseada em resultados de pesquisas em que foi aventada a possibilidade de alguns apresentarem potencial cancerígeno, enquanto que, vários desses corantes, apresentaram resultados confirmando tal potencialidade.

A United Kingdom publicou o Boletim BS-2450/54, contendo uma advertência de âmbito mundial, quanto às características que os produtos corantes de origem mineral ou sintética apresentam, haja vista possuírem elevado teor tóxico, tratando-se, portanto, de substâncias nocivas à saúde. Ainda sobre o assunto, a Organização Mundial de Saúde (OMS) também manifestou repúdio ao consumo de corantes sintéticos pelas mesmas razões. A repercussão do problema foi mais fortemente sentida no segmento industrial de produtos alimentícios, que nos setores farmacêuticos, cosméticos, tintas, vernizes, etc. Em busca de alternativas, muitas empresas particulares, instituições de pesquisas públicas e privadas vêm investigando as matérias-primas naturais para a substituição dos corantes sintéticos, especialmente em alimentos.

Para a obtenção de corantes naturais da flora amazônica, como alternativa da substituição de corantes sintéticos usados nas indústrias de alimentos, torna-se necessário o conhecimento das espécies sob os pontos de vista botânico, químico, bromatológico, toxicológico, etc., para que o corante obtido não cause danos à saúde do consumidor.

## Resultados parciais

### Experimento 1 - Urucu (*Bixa orellana*)

Foi determinado o percentual do corante bixina de sementes de urucu, provenientes de áreas de produtores da zona bragantina, Estado do Pará. Determinada pelo processo de extração com clorofórmio, foram obtidos resultados que variaram desde 0,66% (g/100g) até 5,40% (g/100g) de bixina em sementes de dez cultivares, conforme mostrado na Tabela 35.

**TABELA 35 - Análise dos teores de umidade e bixina em bases úmida e seca, de dez amostras de cultivares de urucu, cultivados em áreas de produtores instalados na zona bragantina, Estado do Pará.**

| Cultivar | Umidade (%) | Bixina base úmida (%) | Bixina base seca (%) |
|---|---|---|---|
| Jari 1 | 8,80 | 2,46 | 2,71 |
| Branca | 8,76 | 2,36 | 2,59 |
| Americana | 9,66 | 0,60 | 0,66 |
| Uncaria | 9,66 | 0,61 | 0,68 |
| Pastelão | 8,75 | 4,70 | 5,15 |
| CPATU | 7,21 | 4,92 | 5,40 |
| Jari 2 | 8,88 | 2,47 | 2,71 |
| Wagner | 8,19 | 1,52 | 1,66 |
| Sta. Izabel 1 | 13,23 | 3,02 | 3,48 |
| Sta. Izabel 2 | 14,25 | 3,60 | 4,20 |

A partir desses estudos foi estabelecida a atuação do projeto referente à matéria-prima urucu, numa primeira fase, como apoio laboratorial às pesquisas de melhoramento genético desenvolvidas no CPATU e, numa segunda fase, o estabelecimento do processo em escala piloto para a produção de corante em pó.

No processo de seleção das cultivares mais produtoras de corantes, foram analisadas 131 amostras de sementes de urucu, das quais, 36 tiveram preferência para a seleção e com estas foram instalados experimentos de ensaios genéticos conduzidos nos municípios paraenses de Tracuateua e Capitão Poço. O material produzido nos dois ensaios foi analisado a cada safra, para a avaliação da quantidade de corantes nas sementes, utilizando o processo KOH (Fig. 72) e Tabelas 36 e 37.

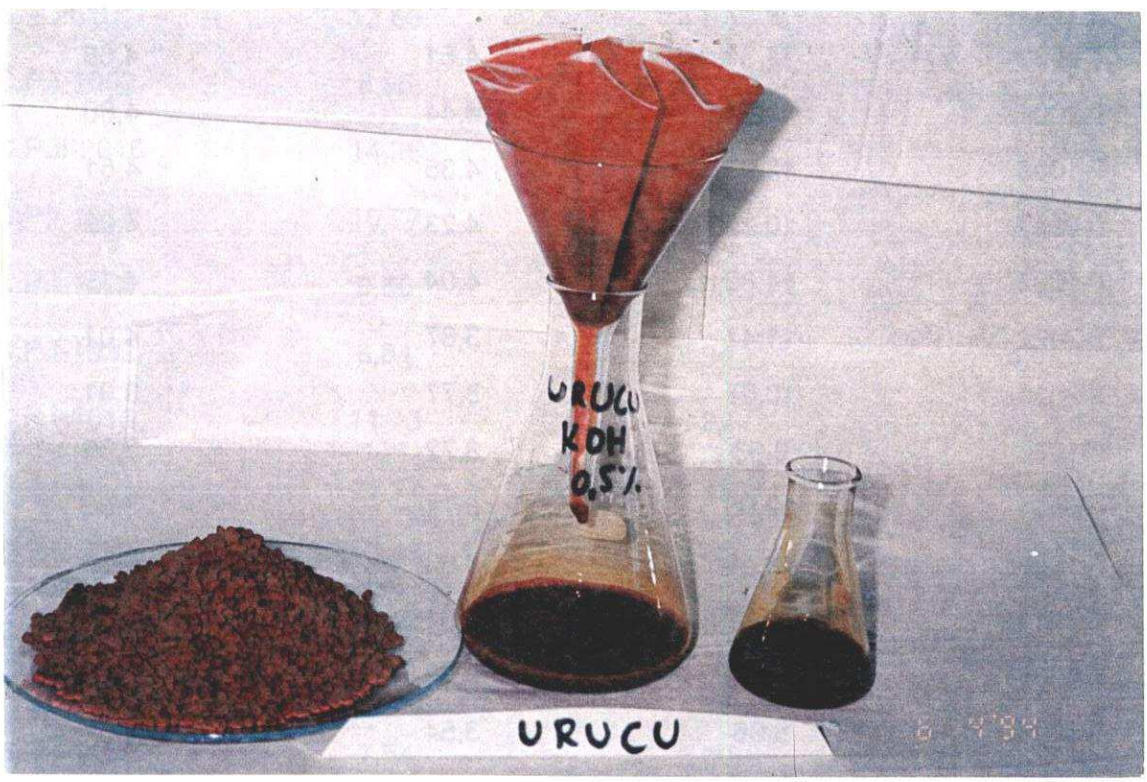


**FIG. 72 - Extratos de sementes de urucu pelo processo KOH.**

**TABELA 36 - Análise dos teores de umidade, norbixina e bixina de sementes de urucu provenientes da primeira coleta de matrizes selecionadas em experimento instalado no município de Tracuateua, PA.**

| Registro | Umidade (%) | Norbixina base seca (%) | Bixina (%) (Norbixina x 1,037) |
|---|---|---|---|
| T-1011 | 11,01 | 6,15 | 6,38 |
| T-1009 | 12,72 | 5,96 | 6,18 |
| T-2008 | 10,67 | 5,37 | 5,57 |
| T-2027 | 10,55 | 5,23 | 5,42 |
| T-1020 | 11,24 | 4,89 | 5,07 |
| T-1001 | 14,72 | 4,72 | 4,89 |
| T-1021 | 10,71 | 4,66 | 4,83 |
| T-1013 | 9,98 | 4,65 | 4,82 |
| T-2032 | 11,33 | 4,51 | 4,68 |
| T-2001 | 10,84 | 4,44 | 4,60 |
| T-1005 | 12,07 | 4,35 | 4,51 |
| T-2017 | 10,25 | 4,23 | 4,39 |
| T-1002 | 14,69 | 4,04 | 4,19 |
| T-2022 | 11,47 | 3,87 | 4,01 |
| T-2015 | 10,67 | 3,77 | 3,91 |
| T-1032 | 9,93 | 3,72 | 3,86 |
| T-2031 | 12,96 | 3,71 | 3,85 |
| T-1006 | 13,49 | 3,63 | 3,76 |
| T-2014 | 10,37 | 3,61 | 3,74 |
| T-1035 | 10,31 | 3,59 | 3,72 |
| T-1028 | 8,96 | 3,54 | 3,67 |
| T-1003 | 14,30 | 3,53 | 3,66 |
| T-2025 | 8,83 | 3,51 | 3,64 |
| T-2010 | 11,74 | 3,50 | 3,63 |
| T-2018 | 10,87 | 3,44 | 3,57 |
| T-1007 | 13,33 | 3,38 | 3,50 |
| T-1027 | 9,03 | 3,36 | 3,48 |

**TABELA 37 - Análise dos teores de umidade, norbixina e bixina de sementes de urucu provenientes da primeira coleta de matrizes selecionadas em experimento instalado no município de Capitão Poço, PA.**

| Registro | Umidade (%) | Norbixina base seca (%) | Bixina (%) (Norbixina x 1,037) |
|---|---|---|---|
| C.P.1027 | 11,06 | 7,06 | 7,32 |
| C.P.1013 | 17,64 | 6,34 | 6,57 |
| C.P.2006 | 15,13 | 5,93 | 6,15 |
| C.P.I-1013 | 16,73 | 5,80 | 6,01 |
| C.P.1021 | 10,88 | 5,33 | 5,53 |
| C.P.2012 | 15,58 | 5,19 | 5,38 |
| C.P.2010 | 12,55 | 4,82 | 5,00 |
| C.P.I-1002 | 8,95 | 4,17 | 4,32 |
| C.P.II-2016 | 14,25 | 4,10 | 4,25 |
| C.P.I-1018 | 10,77 | 4,09 | 4,24 |
| C.P.I-1020 | 9,60 | 3,95 | 4,10 |
| C.P.I-1032 | 8,64 | 3,94 | 4,08 |
| C.P.I-1015 | 11,73 | 3,92 | 4,06 |
| C.P.I-1031 | 11,12 | 3,69 | 3,83 |
| C.P.II-2025 | 13,40 | 3,69 | 3,83 |
| C.P.II-2029 | 15,13 | 3,65 | 3,78 |
| C.P.II-2001 | 10,83 | 3,64 | 3,77 |
| C.P.I-1006 | 7,54 | 3,60 | 3,73 |
| C.P.II-2008 | 14,15 | 3,56 | 3,69 |

A coleta da segunda safra de urucu, nos experimentos em ambos os municípios, foi relizada com certa dificuldade que se estendeu à execução das etapas posteriores à colheita, uma vez que não se dispunha de pessoal necessário à rápida realização do beneficiamento pós-colheita e ao preparo das amostras para análise. O tempo demasiado longo, as altas temperaturas e o excesso de raios solares sofridos pelo material, desde a coleta até o momento das análises, causaram sérios danos ao mesmo, sendo este fato ratificado pelos baixos teores de norbixina e bixina encontrados. Os dados compõem as Tabelas 38 e 39.

**TABELA 38 - Análise dos teores de umidade, norbixina e bixina de sementes de urucu provenientes da segunda coleta de matrizes selecionadas em experimento instalado no município de Capitão-Poço, PA.**

| Registro | Umidade (%) | Norbixina base seca (%) | Bixina (%) |
|---|---|---|---|
| Capitão-Poço - 1001 | 8,89 | 4,26 | 4,42 |
| Capitão-Poço - 1009 | 9,78 | 4,18 | 4,33 |
| Capitão-Poço - 1005 | 10,11 | 4,16 | 4,31 |
| Capitão-Poço - 1013 | 9,30 | 4,16 | 4,31 |
| Capitão-Poço - 1007 | 10,13 | 3,84 | 3,98 |
| Capitão-Poço - 1014 | 9,10 | 3,60 | 3,73 |
| Capitão-Poço - 1032 | 8,68 | 3,56 | 3,69 |
| Capitão-Poço - 1031 | 9,26 | 3,47 | 3,60 |
| Capitão-Poço - 1017 | 8,85 | 3,45 | 3,58 |
| Capitão-Poço - 1008 | 9,39 | 3,39 | 3,51 |
| Capitão-Poço - 1020 | 9,81 | 3,30 | 3,42 |
| Capitão-Poço - 1015 | 8,28 | 3,22 | 3,34 |
| Capitão-Poço - 1027 | 8,16 | 3,18 | 3,30 |
| Capitão-Poço - 1016 | 9,27 | 3,13 | 3,24 |
| Capitão-Poço - 1029 | 9,11 | 2,95 | 3,06 |
| Capitão-Poço - 1019 | 8,65 | 2,94 | 3,05 |
| Capitão-Poço - 1010 | 10,66 | 2,88 | 2,99 |
| Capitão-Poço - 1030 | 8,36 | 2,78 | 2,88 |
| Capitão-Poço - 1033 | 9,76 | 2,78 | 2,88 |
| Capitão-Poço - 1011 | 8,27 | 2,64 | 2,74 |
| Capitão-Poço - 1004 | 9,34 | 2,62 | 2,72 |
| Capitão-Poço - 1035 | 9,65 | 2,59 | 2,68 |
| Capitão-Poço - 1018 | 8,95 | 2,56 | 2,65 |
| Capitão-Poço - 1034 | 9,00 | 2,55 | 2,64 |
| Capitão-Poço - 1025 | 9,34 | 2,54 | 2,63 |
| Capitão-Poço - 1012 | 8,77 | 2,47 | 2,56 |
| Capitão-Poço - 1023 | 8,44 | 2,42 | 2,51 |
| Capitão-Poço - 1028 | 9,43 | 2,12 | 2,20 |
| Capitão-Poço - 1022 | 10,40 | 1,95 | 2,02 |
| Capitão-Poço - 1024 | 9,23 | 1,90 | 1,97 |
| Capitão-Poço - 1036 | 8,96 | 1,82 | 1,89 |
| Capitão-Poço - 1026 | 9,11 | 1,75 | 1,81 |

**TABELA 39 - Análise dos teores de umidade, norbixina e bixina de sementes de urucu provenientes da segunda coleta de matrizes selecionadas em experimento instalado no município de Tracuateua, PA.**

| Registro | Umidade (%) | Norbixina base seca (%) | Bixina (%) |
|---|---|---|---|
| Tracuateua - 1001 | 10,46 | 4,51 | 4,68 |
| Tracuateua - 1031 | 9,75 | 3,92 | 4,06 |
| Tracuateua - 1013 | 8,09 | 3,79 | 3,93 |
| Tracuateua - 1032 | 10,66 | 3,77 | 3,91 |
| Tracuateua - 1027 | 5,82 | 3,58 | 3,71 |
| Tracuateua - 1005 | 8,78 | 3,53 | 3,66 |
| Tracuateua - 1021 | 6,70 | 3,42 | 3,55 |
| Tracuateua - 1007 | 7,14 | 3,41 | 3,54 |
| Tracuateua - 1008 | 7,64 | 3,37 | 3,49 |
| Tracuateua - 1020 | 6,15 | 3,28 | 3,40 |
| Tracuateua - 1016 | 8,48 | 3,10 | 3,22 |
| Tracuateua - 1015 | 7,94 | 3,07 | 3,19 |
| Tracuateua - 1002 | 9,87 | 2,96 | 3,07 |
| Tracuateua - 1033 | 7,93 | 2,96 | 3,07 |
| Tracuateua - 1006 | 6,28 | 2,91 | 3,02 |
| Tracuateua - 1012 | 6,91 | 2,87 | 2,97 |
| Tracuateua - 1014 | 6,64 | 2,87 | 2,98 |
| Tracuateua - 1028 | 7,14 | 2,87 | 2,92 |
| Tracuateua - 1035 | 7,14 | 2,86 | 2,97 |
| Tracuateua - 1017 | 8,05 | 2,84 | 2,94 |
| Tracuateua - 1030 | 8,72 | 2,83 | 2,93 |
| Tracuateua - 1004 | 10,43 | 2,82 | 2,92 |
| Tracuateua - 1010 | 9,79 | 2,70 | 2,80 |
| Tracuateua - 1029 | 7,29 | 2,66 | 2,73 |
| Tracuateua - 1024 | 7,64 | 2,60 | 2,70 |
| Tracuateua - 1025 | 6,91 | 2,59 | 2,68 |
| Tracuateua - 1018 | 9,36 | 2,48 | 2,57 |
| Tracuateua - 1026 | 7,87 | 2,45 | 2,56 |
| Tracuateua - 1034 | 7,54 | 2,45 | 2,54 |
| Tracuateua - 1003 | 10,85 | 2,43 | 2,52 |
| Tracuateua - 1036 | 8,67 | 2,31 | 2,39 |
| Tracuateua - 1019 | 7,11 | 2,21 | 2,29 |

O material da primeira coleta de Capitão-Poço apresentou maior percentual de corante, 7,32% de bixina, enquanto que o da segunda apresentou teor máximo de 4,42%. Nas amostras provenientes de Tracuateua ocorreu da mesma forma, na primeira coleta foi encontrado teor máximo de 6,38% de bixina, enquanto que na segunda o maior conteúdo de bixina foi 4,68%. O trabalho será continuado, esperando-se que este tipo de interferência não mais ocorra, causando prejuízos na interpretação dos resultados obtidos neste experimento.

É necessária a prorrogação do prazo de execução do projeto para o alcance pleno dos objetivos, que visam acompanhar o comportamento das cultivares em cada safra. Conclui-se que mais dois anos de atividades, a contar de junho de 1995 a maio de 1997, serão suficientes para a conclusão do experimento, o que será conseguido pelo estabelecimento do processo piloto de produção do corante de urucu em pó.

Com a consultoria da JICA foram iniciados testes de extração de corantes de açafrão, repolho-roxo, milho-roxo e beterraba, funcionando como base metodológica do processo e de comparação com os extratos de açaí e cará-roxo. Os dados obtidos nos testes com o açafrão são apresentados na Tabela 40.

**TABELA 40 - Extração do corante de açafrão com álcool etílico P.A., a 50% e com ácido clorídrico a 1%, seus correspondentes valores em CV e CQ nos extratos e CQ nas amostras.**

| Solvente | Diluição | Absorbância 425nm | CV Extrato | CQ Extrato | CQ Amostra/g |
|---|---|---|---|---|---|
| ET-OH/50% | 0,5ml extr/25ml | 0,640 | 32,00 | 6.400 | 320 |
| ET-OH/P.A. | 0,2ml extr/25ml | 0,830 | 103,75 | 20.750 | 1.037 |
| HCl/1% | Sem diluição | 0,14 | 0,14 | 28 | 1,4 |

CV = Valor de cor; e CQ = Quantidade de cor.

## Experimento 2 - Açaí (*Euterpe oleracea*)

Os resultados dos testes de extração do corante de frutos de açaí, com diferentes solventes (Fig. 73), forneceram os resultados apresentados na Tabela 41.

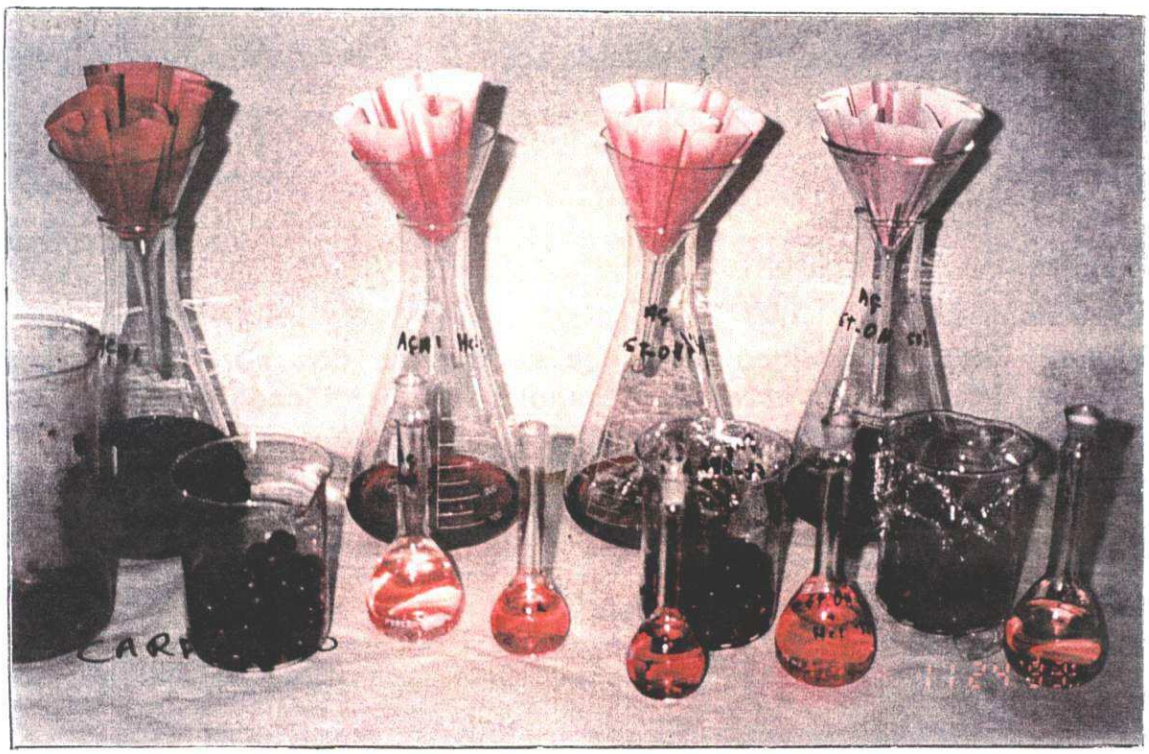

**FIG. 73 - Extratos dos corantes de frutos de açaí, com diferentes solventes.**

**TABELA 41 - Resultados de absorbância máxima, CQ e CV de amostras de açaí tratadas com diferentes solventes.**

| Solvente | Solvente/ Amostra | Absorbância Máxima/ λ max | CQ/100ml | CV/gA |
|---|---|---|---|---|
| Etanol 50% | 100ml/100g | 0,160/536nm | 160 | 1,60 |
| HCl 1% | 100ml/100g | 0,465/515nm | 11.625 | 11,62 |
| Etanol 50% + HCl 1% | 100ml/100g | 0,435/525nm | 1.087,5 | 10,87 |

CQ = Quantidade de cor; CV = Valor de cor.

A princípio, o maior valor dλe cor (CV=11,6) foi obtido utilizando-se solução de HCl a 1%. O extrato de açaí tem coloração púrpura, em pH ácido, e verde-escura azulada, em pH alcalino. Trata-se de um corante da classe das antocianinas.

Está sendo observado, após vários testes com diferentes solventes, o melhor processo extrativo desse corante, para tanto é usando um extrator composto de água, álcool etílico a 10% e ácido clorídrico a 0,1%, em maceração a frio. Estão sendo obtidos extratos coloridos da primeira extração, com CV variando entre 84,4 e 89,4 (Tabelas 42 e 43), enquanto nos testes anteriores (novembro de 1993) o extrato de açaí que apresentou o mais elevado CV foi 11,62.

**TABELA 42 - Teste com cinco extrações sucessivas dos corantes de açaí (1), (*Euterpe olleracea*), com Etanol a 10%, acidificado com 0,1% de HCl e as respectivas observações de cada extrato.**

| Observações | Amostra 1 (Etanol 10% + 0,1% de HCl) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1ª Extração | 2ª Extração | 3ª Extração | 4ª Extração | 5ª Extração |
| Volume amostra (ml) | 50 | 64 | 45 | 44 | 45 |
| Diluição amostra (ml/ml) | 0,5/100 | 1,5/100 | 1,5/100 | 1,0/100 | 1,0/100 |
| Comprimento de onda máximo (nm) | 514,5 | 513,0 | 514,0 | 513,5 | 513,5 |
| Absorbância máxima | 0,447 | 0,811 | 0,717 | 0,570 | 0,702 |
| CV * | 89,4 | 54,1 | 47,8 | 57,0 | 70,2 |
| CV */ml | 4470 | 3462 | 2151 | 2508 | 3159 |

CV * = Valor de cor

**TABELA 43 - Teste com cinco extrações sucessivas dos corantes de açaí (2), (*Euterpe olleracea*), com Etanol a 20%, acidificado com 0,1% de HCl e as respectivas observações de cada extrato.**

| Observações | Amostra 2 (Etanol 20% + 0,1% de HCl) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1ª Extração | 2ª Extração | 3ª Extração | 4ª Extração | 5ª Extração |
| Volume amostra (ml) | 50 | 65 | 45 | 50 | 48 |
| Diluição amostra (ml/ml) | 0,5/100 | 1,5/100 | 1,5/100 | 2,0/100 | 1,0/100 |
| Comprimento onda máximo (nm) | 515,0 | 514,5 | 514,0 | 514,0 | 514,5 |
| Absorbância máxima | 0,422 | 0,560 | 0,745 | 0,879 | 0,656 |
| CV * | 84,4 | 37,3 | 49,7 | 44,0 | 65,6 |
| CV */ml | 4220 | 2425 | 2237 | 2200 | 3149 |

CV * = Valor de cor.

Foram verificadas algumas interferências no processo extrativo dos corantes, sendo o mais marcante o tempo de extração. A princípio deve-se fixar o intervalo de tempo considerado entre uma extração e outra, para minimizar este tipo de interferência. Tanto no teste com Etanol a 10% como no a 20%, na quinta extração foram obtidos CV's bem acima dos verificados na quarta extração, e isto ocorreu em função do intervalo de tempo que foi relativo a um final de semana. Pretende-se estabelecer o tempo de extração e o número de extrações economicamente viáveis para recomendação neste processo com o açaí.

O extrato de açaí submetido a TLC, apresentrou duas substâncias da classe de antocianinas, como responsáveis pela coloração da amostra em estudo. Foram feitos testes de utilização do corante de açaí no preparo de bombons (tipo "hard candies"), com bons resultados.

Os testes de extração dos corantes de açaí, bem como os de utilização dos mesmos, indicam tratar-se de uma matéria-prima muito promissora como fonte de corante natural.

## Experimento 3 - Cará-roxo (*Dioscorea alata*)

Os tubérculos dessa espécie, "in-natura", foram submetidos à extração para obtenção do corante de cará-roxo (Fig. 74).

**FIG. 74 - Extratos do corante de cará-roxo, com diferentes solventes.**

Amostras de cará-roxo submetidas à extração com HCl 1%, forneceram extratos de coloração semelhante à do açaí e o CV/gA extraído foi o mais elevado (19,0). Estes dados podem ser observados na Tabela 44.

**TABELA 44 - Resultados de absorbância máxima, valor de cor (CV) e quantidade de cor (CQ) de amostras de cará-roxo, tratadas com diferentes solventes.**

| Solvente | Extração Solvente/Amostra | Diluição (ml/ml) | Absorbância máxima | CV | CQ/100ml | CV/gA |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Etanol puro | 200ml/50g | 5/25 | 0,315/510nm | 1,57 | 315 | 6,3 |
| Etanol 50% + NaOH 1% | 200ml/50g | S/d | 0,440/510nm | 0,44 | 88 | 1,7 |
| HCl 1% | 200ml/50g | 1/25 | 0,190/510nm | 4,75 | 950 | 19,0 |
| NaOH 1% | 200ml/50g | S/d | 0,540/510nm | 0,54 | 108 | 2,16 |

CV = Valor de cor do extrato de amostra; CV/gA = Valor de cor da matéria-prima; CQ/100ml = Quantidade de cor em 100ml de extrato de amostra

O corante de cará-roxo foi extraído com Etanol a 10% e a 20%, acidificados com 0,1% de HCl. As observações feitas para cada extrato são apresentadas na Tabela 45.

**TABELA 45 - Extração do corante de duas amostras de cará-roxo (*Dioscorea alata*) com Etanol a 10% (1) e a 20% da amostra (2), acidulados com 0,1% de HCl, e as observações de CV; CV/vol e CV/gA, feitas para cada extrato.**

| Observações | Amostra (1) | Amostra (2) |
|---|---|---|
| Amostra (g) | 196,2 | 196,0 |
| Etanol (%) | 10 | 20 |
| Volume extrato (ml) | 40 | 50 |
| CV * | 40,9 | 37,5 |
| CV */Vol. extrato | 1,636 | 1,875 |
| CV */g. amostra | 8,34 | 9,57 |

CV * = Valor de cor.

Dando seqüência aos estudos com o cará-roxo, foram adquiridos em feira-livre da cidade de Belém alguns tubérculos para extração do corante em laboratório. Foi observado que a amostra apresentou a coloração púrpura muito forte em comparação com outras já trabalhadas. Através de leitura do extrato em espectrofotômetro, obteve-se o CV = 46,6 , enquanto que as amostras obtidas em experimento agronômico na área do CPATU, apresentaram CV = 13,8. Os resultados deste teste são apresentados na Tabela 46.

**TABELA 46 - Extração do corante de duas amostras de cará-roxo (*Dioscorea alata*), com solução de HCl 1% e as observações de CV; CV/vol e CV/gA, feitas para cada extrato.**

| Observações | Amostra (1) | Amostra (2) |
|---|---|---|
| Amostra (g) | 200 | 200 |
| Volume extrato (ml) | 39 | 48 |
| Comprimento onda máximo (nm) | 525 | 525 |
| Absorbância máxima | 0,466 | 0,138 |
| CV * | 46,6 | 13,8 |
| CQ **/vol. extrato | 1.817,4 | 662,4 |
| CQ **/g. amostra | 9,087 | 3,312 |

CV * = Valor de cor; e CQ ** = Quantidade de cor

Os resultados dos quatro testes de extração do corante de cará-roxo, mostraram variação da intensidade de cor desse corante em função da matéria-prima. Há diferença perceptível a olho nu, quanto à intensidade de "roxo", entre um e o outro material "in-natura".

Através de cromatografia em placa de camada fina (TLC) pode-se confirmar, após o uso dos padrões de milho-roxo e repolho-roxo, que o açaí e o cará-roxo possuem corantes da classe de antocianinas: o açaí tem dois corantes (Rf 0,34 e 0,57); o cará-roxo apenas um (Rf 0,47); o milho-roxo tem dois (Rf 0,28 e 0,58) e o repolho-roxo também tem dois (Rf 0,53 e 0,66). Estes dados foram obtidos usando placa de celulose Funasel SF e solvente n-butanol: ácido acético: água = 4:1:2.

## Experimento 4 - Jenipapo (*Genipa americana*)

Os frutos maduros submetidos à extração com diferentes solventes forneceram um extrato amarelo cristalino (Fig. 75), enquanto que os frutos verdes, extraídos com solução de hidróxido de sódio a 0,1%, fornecem extrato azul-anil (Fig. 76).

**FIG. 75 - Extratos de frutos maduros de jenipapo, utilizando diferentes solventes.**

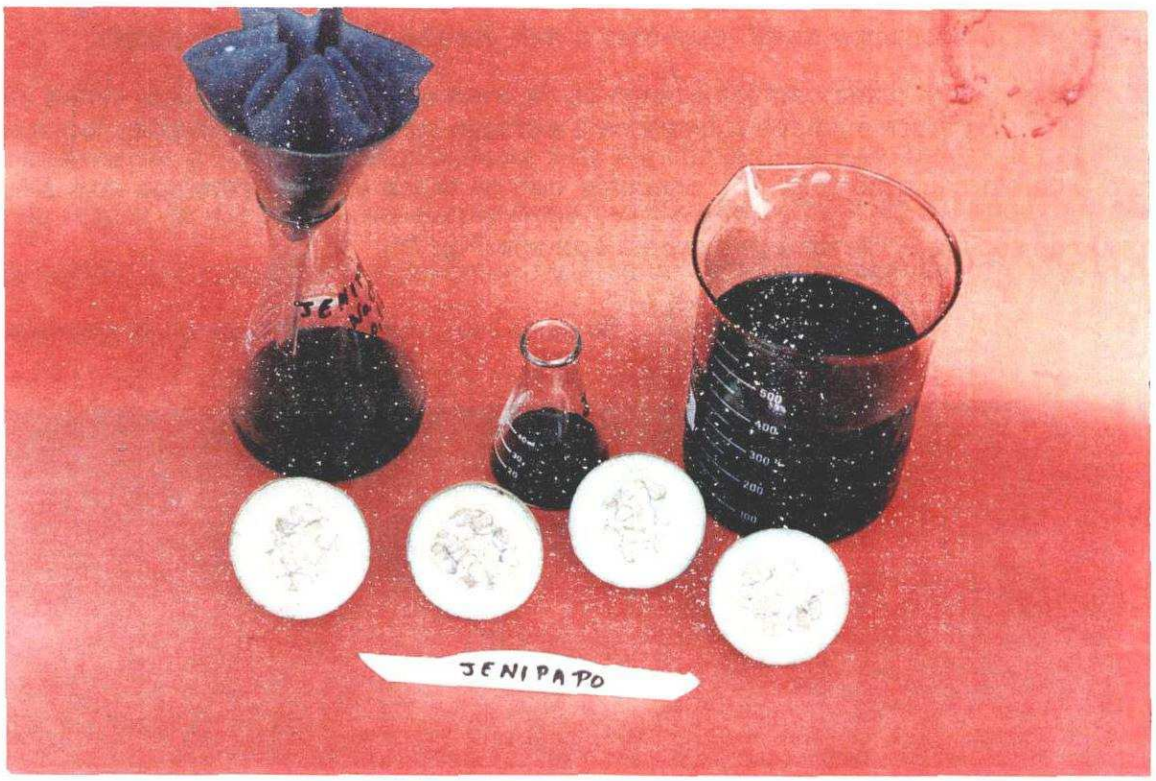


**FIG. 76 - Extratos de frutos verdes de jenipapo, utilizando solução de NaOH a 0,1%.**

Os resultados de ensaios preliminares com o jenipapo indicaram a presença de um corante semelhante à genipina, corante natural usado em alimentos e muito popular no Japão. Reiniciadas as atividades com essa matéria-prima, verificou-se que o extrato etanólico de cor azul-índigo, assume a coloração verde-azulada durante o processo de concentração em evaporador rotativo, à temperatura entre 40°C e 45°C sob vácuo. Em decorrência deste fato, a pesquisa deverá tomar novos rumos, uma vez que embora o pigmento seja um geniposídeo, não apresenta reação semelhante à genipina.

## Conclusões preliminares

O experimento com ó urucu está sendo muito bem conduzido e as técnicas de análise do conteúdo de corantes nas sementes dessa matéria-prima já constitui rotina analítica perfeitamente dominada, restando apenas a definição do processo de produção do corante de urucu em pó, numa escala piloto, para a conclusão dos trabalhos com esta espécie.

Os experimentos com o açaí e com o cará-roxo estão em andamento. Foram detectados por HPLC a existência de dois corantes no açaí e um corante no cará-roxo, todos da classe de antocianinas. Estão sendo feitos testes de utilização dos corantes em produtos alimentícios e serão iniciados também estudos de estabilidade dos corantes à ação de pH, luz, agentes oxidantes e temperatura.

## Difusão de tecnologia

Os resultados alcançados foram divulgados através de:

- Apresentação de dois trabalhos técnicos no "Simpósio Internacional de Urucu e Corantes Naturais", Campinas, SP, em junho de 1991.

- Apresentação de trabalho no Work Shop CPATU/JICA, realizado no CPATU, Belém, PA, em abril de 1994.

- Apresentação de duas palestras no "II Congresso Brasileiro de Corantes Naturais e II Simpósio Brasileiro de Urucu". Belém, PA, em setembro de 1994.

- Apresentação de quatro trabalhos técnicos no "II Congresso Brasileiro de Corantes Naturais e II Simpósio Brasileiro de Urucu". Belém, PA, em setembro de 1994.

- Veiculação de matéria jornalística através da imprensa local (Diário do Pará, O Liberal, etc).