
ANÁLISE DE IMPUREZAS EM SEMENTES DE URUCUM (*Bixa orellana* L.).

Isabela Roje SANCHES⁽¹⁾; Paulo Eduardo da Rocha TAVARES⁽²⁾; Marta Gomes da SILVA⁽²⁾; Paulo Roberto Nogueira CARVALHO⁽²⁾

Resumo

O urucum é uma cultura típica de pequenos produtores e tem como característica o baixo uso de implementos agrícolas na colheita e no beneficiamento dos grãos. Por isso, é comum o uso de equipamentos adaptados ou mesmo de técnicas como a “bateção” com varas flexíveis para a retirada das sementes dos frutos e o abano manual, com o uso de peneiras, para a separação das impurezas. Além disso, uma manipulação intensa das sementes pode promover perdas consideráveis das principais substâncias de interesse, que se localizam na superfície dos grãos. Tudo isso faz com que o beneficiamento do urucum seja realizado de forma menos intensa do que em outros grãos e, em muitos casos, as sementes sejam comercializadas com uma concentração elevada de impurezas. Por outro lado, não se tem padrões estabelecidos para impurezas em sementes de urucum ou mesmo um método padronizado para a análise dessas impurezas, ficando a cargo das indústrias consumidoras ou de atravessadores o estabelecimento desses padrões, como também a realização de análises por métodos não validados. Esse estudo estabeleceu e validou uma metodologia para a análise de impurezas em sementes de urucum. O método estabelecido mostrou-se linear na faixa de impurezas de 0,5 g/100 g a 7,0 g/100 g. A exatidão do método ficou estabelecida como três vezes a incerteza calculada pela equação $CV_{max} (\%) = 2^{(1-0,5 \log C)}$ (onde: C é a concentração estudada expressa como potência de 10). O estudo de robustez do método indicou que as malhas das peneiras utilizadas e a catação manual são fatores que podem influenciar significativamente os resultados.

Palavras-chave: Sementes de urucum, Impurezas, Método de análise.

IMPURITIES ANALYSIS IN ANNATTO SEEDS (*Bixa orellana* L.).

Abstract

Annatto is a typical crop of small producers and has as characteristic the low use of agricultural implements in the harvesting and grains beneficiation. Therefore, it is common to use adapted equipment or techniques such as "hitting" with flexible rods to remove the seeds from the fruits and manual fist, with the use of sieves, for the separation of impurities. In addition, intense seed handling can cause considerable losses of the main substances of interest that are located on the grain surface. All this makes the processing of annatto less intense than in other grains and, in many cases, the annatto seeds are marketed with a high impurities concentration. There are no established standards for impurities in annatto seeds or a standardized method for analysis of these impurities, leaving it under responsibility of the industries to establish these standards and to analyze by unvalidated methods. This study established and validated a methodology for the impurities analysis in annatto seeds. The established method was linear in the impurities range from 0.5 g/100 g to 7.0 g/100 g. The accuracy of the method was established as three times the uncertainty calculated by the equation $CV_{max} (\%) = 2^{(1-0,5 \log C)}$ (where: "C" is the studied concentration expressed as power of 10). The study of robustness of the method indicated that the mesh of the sieves and the manual sorting are factors that can significantly influence the results.

Key Words: Annatto seeds, Impurities, Analytical methodology.

⁽¹⁾Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Química, UNICAMP, Campinas-SP; isabelarsanches@gmail.com; ⁽²⁾ Pesquisadores do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Av. Brasil, 2880, 13073-178, Campinas (SP), E-mail: carvalho@ital.sp.gov.br.

1. INTRODUÇÃO

As sementes de urucum diferem da maioria das sementes por apresentarem a parte mais importante de seu conteúdo na superfície do grão. É no pericarpo, formado por um arilo que recobre as sementes, que estão localizados os pigmentos e várias outras substâncias que dão valor a essa cultura. Essa característica traz às sementes de urucum algumas peculiaridades que não podem ser desconsideradas. Entre essas peculiaridades está a suscetibilidade de várias substâncias presentes nas sementes de urucum, incluindo os pigmentos, a fatores como a luz, o oxigênio e altas temperaturas. Alia-se a isso o risco de perder essas substâncias durante os processos de beneficiamento dos grãos pelo atrito entre as sementes e delas com os equipamentos utilizados nesses processos.

Na colheita do urucum, os frutos são colhidos e depositados no solo ou sobre uma lona para secagem. Depois de secas as sementes são retiradas dos frutos e as impurezas como pedaços de galhos, frutos e folhas são separadas dos grãos por equipamentos adaptados para isso ou por abano manual com peneira.

A intensidade de manipulação das sementes de urucum no processo de limpeza

pode promover perdas significativas de pigmentos. Por isso, muitas vezes as sementes de urucum são comercializadas com uma elevada concentração de impurezas.

Há pouco tempo publicamos um artigo com a intenção de discutir a presença e as análises dessas impurezas (CARVALHO, 2017). Naquela oportunidade observamos que não existe ainda um padrão oficial ou comercial para impurezas em sementes de urucum, ficando a cargo da indústria consumidora ou do atravessador a definição desse valor. O que se tem observado é que esses valores podem variar de 0,5 a 5% de impurezas.

OLIVEIRA & GHIRALDINI (1988) apresentaram uma classificação para grãos de urucum (Tabela 1), na qual as impurezas são descritas como “detritos do próprio produto, como pedúnculos (talos) e folhas” e limitadas a concentrações inferiores a 5% para as classificações “Tipo 1” e “Tipo 2”. FRANCO et al (2008), apresentam uma classificação das sementes similar à descrita por OLIVEIRA & GHIRALDINI (1988), diferindo apenas no teor de bixina para as sementes consideradas como “Tipo 3”, citando um valor de 1,8%.

TABELA 1. Classificação das sementes de urucum segundo OLIVEIRA & GHIRALDINI (1988).

Fatores de qualidade	Classes		
	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3 ⁽¹⁾
Umidade (%) ⁽²⁾	< 10	10 a 14	> 14
Teor de pigmento (% de Bixina) ⁽³⁾	> 2,5	2,0 a 2,5	< 2,0
Impurezas (%) ⁽⁴⁾	< 5	≤ 5	> 5
Matéria estranha ⁽⁵⁾	Ausente	Ausente	Presente

⁽¹⁾ Fora de especificação.

⁽²⁾ Umidade - percentagem de água contida na amostra

⁽³⁾ Teor de pigmento - bixina - porcentagem de pigmento contida no pericarpo da semente.

⁽⁴⁾ Impurezas - detritos do próprio produto, como pedúnculos (talos) e folhas.

⁽⁵⁾ Matéria estranha - grãos ou sementes de outros vegetais, além de corpos estranhos de qualquer natureza não oriundos do produto e não nocivas à saúde humana.

Atualmente, a realidade é outra. O comércio de sementes nos grandes centros produtores e consumidores não consideram como de boa qualidade, sementes de urucum

com concentração de bixina¹ inferior a 4% e a presença de impurezas dificilmente chega a

¹ Carotenóides totais expressos como bixina.

concentrações de superiores a 5%. MANSIN et al (sem data) apresentam critérios de qualidade estabelecidos por uma grande empresa instalada no Brasil. Segundo esses critérios, o teor de impureza deve ser no máximo 0,5%.

Por outro lado, observamos também que não existe um método de determinação de impurezas em sementes de urucum, estabelecido e aceito por todos os participantes da cadeia produtiva.

Em vistas de todas essas dificuldades procuramos estabelecer e validar uma metodologia de análise de impurezas em sementes de urucum que pudesse ser aplicada pelos produtores e consumidores de sementes e que garantisse a ambos um resultado confiável.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

Um saco de 50 kg de sementes de urucum da “variedade” piave, sem beneficiamento, foi recebido em nosso laboratório e armazenado a temperatura ambiente durante todo o estudo. Uma amostra foi beneficiada, separando as sementes das impurezas. As impurezas separadas foram utilizadas para adições controladas nas sementes beneficiadas, produzindo subamostras com quantidades conhecidas de impurezas.

2.2 Equipamentos

Agitador de peneiras marca Produtest com um conjunto de peneiras com as seguintes aberturas de malha: 4,75mm, 2,00mm, 0,60mm e fundo (“panela”).

2.3 Método

O conjunto de peneiras foi montado (sobrepostos em ordem decrescente de abertura de malha). Uma amostra de $100 \text{ g} \pm 5 \text{ g}$ (M) representativa do lote a ser avaliado foi adicionado à primeira peneira. O conjunto de peneiras foi levado ao agitador e deixado sob agitação por 2 minutos no máximo da escala do equipamento utilizado. Após esse tempo, o conjunto de peneiras foi desmontado e o material retido na primeira (4,75mm) e terceira (0,60mm) peneiras e no fundo foram

transferidos para um frasco. Em seguida, foi feita a separação manual (catação) das impurezas que foram retidas na segunda peneira (2,00mm), que retém as sementes. O material (impurezas) separado manualmente foi juntado às impurezas separadas em todas as peneiras e pesado (mi). As sementes sem impurezas foram também pesadas (ms). O resultado de impurezas na amostra de sementes de urucum foi calculado pelas *Equações 1 e 2*.

A *Equação 1* utiliza a massa de impureza separada e a *Equação 2* utiliza a massa de sementes sem impurezas.

$$I = \frac{mi \times 100}{M} \quad (\text{Equação 1})$$

ou

$$I = 100 - \left(\frac{ms \times 100}{M} \right) \quad (\text{Equação 2})$$

onde:

mi = massa das impurezas separadas.

ms = massa das sementes sem impurezas

M = massa da amostra.

2.4 Validação do método

O método foi validado quanto aos seguintes parâmetros:

Linearidade: Para isso foi adicionado a uma amostra de sementes previamente limpas, quantidades crescentes de impurezas nas seguintes proporções (em g/100g): 0,26; 0,52; 1,00; 2,04; 3,00; 4,04; 5,02; 6,00; 7,04. Cada amostra foi submetida à metodologia de separação de impurezas descrita anteriormente e os resultados foram plotados em um gráfico com o valor teórico versus o valor encontrado. Para a avaliação dos resultados foi utilizado um teste estatístico no qual foi calculado o valor de t_r com $n-2$ graus de liberdade (*Equação 3*) e comparado com o valor de t (*student*) tabelado para um nível de confiança de 95%. O valor de t_r comparado com o valor de t tabelado indica se a correlação é significativa.

$$t_r = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}} \quad (\text{Equação 3})$$

Sensibilidade: A sensibilidade foi estabelecida como o menor ponto do gráfico de linearidade.

Precisão: A precisão do método de análise de impurezas foi determinada por dez repetições analíticas simultâneas e independentes de uma mesma amostra. O coeficiente de variação (CV) dos resultados das dez repetições analíticas foi comparado com o resultado do cálculo do coeficiente de variação (CV_{max}) estabelecido pela equação de HORWITZ (1982), *Equação 4*.

$$CV_{max} (\%) = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (\text{Equação 4})$$

onde: C é a concentração estudada expressa como potência de 10 (Ex. % ou g/100g = 10^{-2}).

Robustez: A robustez do método foi determinada por meio de um planejamento segundo Plaket & Burman (QUATROCCHI et al, 1992) para 7 variáveis e 8 ensaios (Tabela 2). Os parâmetros avaliados estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 2. Delineamento segundo Plaket & Burman para 7 variáveis e 8 ensaios, utilizado no estudo de robustez do método analítico.

Ensaio	A	B	C	D	E	F	G
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1
3	1	-1	1	-1	1	-1	-1
4	1	-1	-1	-1	-1	1	1
5	-1	1	1	-1	-1	1	-1
6	-1	1	-1	-1	1	-1	1
7	-1	-1	1	1	-1	-1	1
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1

TABELA 3. Parâmetros estudados na avaliação da robustez do método.

Variáveis	Código	-1	+1
Tempo de agitação (minutos)	A	1	5
Quantidade de amostra (g)	B	50	100
Concentração de impurezas (g/100g)	C	0,5	5
Abertura da malha da segunda peneira (mm)	D	1,70	2,36
Catação manual	E	Não	Sim
Abertura da malha da primeira peneira (mm)	F	3,35	4,75
Intensidade de agitação (porcentagem da escala do aparelho)	G	50	100

Para a avaliação da influência do parâmetro estudado sobre o resultado do processo analítico, os valores resultantes do delineamento utilizado, em módulo, foram comparados com a estimativa de desvio padrão dos resultados analíticos do estudo de precisão do método, conforme a *Equação 5*. Os resultados dos cálculos dos efeitos, superiores ao obtido pela *Equação 5*, foram considerados significativos.

$$|\text{Resultado obtido}| > s \sqrt{2} \quad (\text{Equação 5})$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Linearidade do método

A Tabela 4 e a Figura 1 apresentam os resultados do estudo de linearidade do método de determinação de impurezas em sementes de urucum avaliado por esse estudo. A aplicação da *Equação 3* indicou que a correlação é positiva, a um nível de significância de 5%, entre os valores teóricos (impurezas adicionadas) e os valores encontrados com a aplicação da metodologia proposta. Portanto, o método é linear na faixa estudada (0,3 g/100g a 7,0 g/100g).

TABELA 4. Concentrações de impurezas adicionadas e encontradas no estudo de linearidade do método analítico.

Nº	Concentração (g/100g)	
	Adicionada	Encontrada
1	0,26	0,36
2	0,52	0,57
3	1,00	1,03
4	2,04	2,11
5	3,00	2,97
6	4,04	3,99
7	5,02	4,96
8	6,00	5,82
9	7,04	6,89

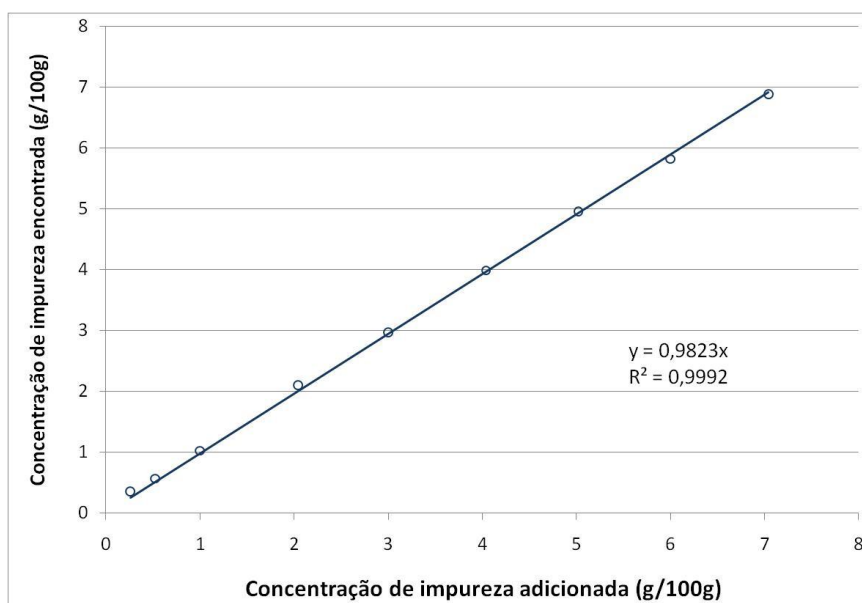


FIGURA 1. Gráfico dos resultados do estudo de linearidade do método de análise de impurezas.

Precisão do método

A Tabela 5 apresenta os resultados de dez repetições analíticas simultâneas e independentes de uma mesma amostra do estudo de precisão do método analítico. O coeficiente de variação observado foi aproximadamente três vezes maior do que o

coeficiente calculado pela equação de HORWITZ (1982). Desse modo, estabelecemos essa proporção como aceitável para a incerteza do método proposto. A Tabela 6 apresenta os valores de incertezas (CV e estimativa de desvio padrão) aceitáveis pela aplicação da metodologia proposta para concentrações entre 0,5 g/100 g e 7,0 g/100 g.

TABELA 5. Resultado do estudo de precisão do método de determinação de impureza.

Análise	Impurezas (g/100g)
1	1,23
2	1,02
3	0,90
4	1,16
5	1,18
6	1,08
7	1,04
8	0,88
9	0,96
10	0,94
Média	1,04
s	0,12
CV (%)	11,59
CV Max (%) ¹	3,98

¹ Obtido a partir da *Equação 4*.

TABELA 6. Coeficiente de variação e estimativa de desvio padrão aceitável para a aplicação da metodologia de análise de impurezas em sementes de urucum para concentrações entre 0,5 g/100 g e 7,0 g/100 g.

Concentração de impurezas (g/100g)	CV ¹ máximo (%)	s ² máximo (g/100g)
0,5	13,3	0,07
1,0	12,0	0,12
2,0	10,8	0,22
3,0	10,2	0,31
4,0	9,7	0,39
5,0	9,4	0,47
6,0	9,2	0,55
7,0	9,0	0,63

¹ Três vezes o coeficiente de variação obtido pela *Equação 4*.

² Estimativa de desvio padrão máximo.

Robustez do método

A Tabela 7 apresenta os resultados do delineamento utilizado no estudo de robustez do método analítico. O resultado da aplicação da *Equação 5* sobre a estimativa de desvio padrão do estudo de linearidade (0,12 g/100 g) resultou em um valor igual a 0,17 g/100 g. Esse valor, quando comparado com os resultados dos cálculos dos efeitos, indicou que houve influência significativa nos resultados analíticos quando houve variação nos seguintes fatores:

quantidade de impureza (0,5 g/100 g para 5,0 g/100 g); abertura da malha da primeira peneira (3,35mm para 4,75mm); abertura da malha da segunda peneira (1,7mm para 2,36mm) e na utilização da catação manual (sim e não). Não foi observada influência nos resultados analíticos quando houve variação no tempo de agitação (1 minuto e 5 minutos); na quantidade de amostra (50g e 100g) e na intensidade de agitação (50% e 100% da escala do equipamento).

TABELA 7. Resultados do delineamento utilizado no estudo de robustez do método analítico.

Ensaio	Fatores estudados							Resultados ¹ (g/100g)
	A	B	C	D	E	F	G	
1	1	1	1	1	1	1	1	4,88
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	9,90
3	1	-1	1	-1	1	-1	-1	4,89
4	1	-1	-1	-1	-1	1	1	0,30
5	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1,83
6	-1	1	-1	-1	1	-1	1	0,50
7	-1	-1	1	1	-1	-1	1	13,97
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1	0,52
Resultados ²	0,05	0,03	0,20	0,40	0,22	0,57	0,03	

¹ Resultados dos ensaios realizados; ² Resultados dos cálculo dos efeitos.

Apesar da boa linearidade da metodologia estudada, os resultados do estudo de robustez do método indicaram a influência da quantidade de impurezas no resultado analítico. Essa influência pode ser explicada pela utilização de um dos valores próximo ao limite de detecção do método (0,5 g/100g) onde há uma maior incerteza no processo analítico. Sugere-se aumentar o número de repetições analíticas quando se trabalhar próximo a esse limite.

O uso da peneira 0,60mm se justifica pela possibilidade de se trabalhar com amostras que, por diversos fatores ², podem apresentar desprendimento de parte desses pigmentos na forma de um pó corante que permeia todas as peneiras e só é retido no fundo (“panela”) do

conjunto de separação. Esse material é rico em pigmentos conforme apresentamos em artigo anterior sobre esse tema (CARVALHO, 2017). A decisão sobre considerar esse material como impureza pode ser tomada a partir de ensaios complementares, como a análise de cinzas e de pigmentos. Uma elevada concentração de cinzas indica a presença de materiais inorgânicos proveniente do solo, o que pode inviabilizar sua utilização no processo industrial.

4. CONCLUSÃO

- 1 - O método proposto é de fácil execução e necessita de poucos equipamentos;
- 2 - O processo analítico apresentou boa linearidade na faixa de 0,5g a 7,0g de impurezas por 100g de sementes de urucum;

² Podemos considerar como fatores que promovem o desprendimento dos pigmentos dos grãos: a baixa umidade, o baixo teor de lipídios ou de outros materiais como terpenos, álcoois graxos, etc.

- 3 - A exatidão do método foi o equivalente a três vezes o coeficiente de variação estabelecido pela equação de HORWITZ.
- 4 - O método mostrou-se relativamente robusto, com a necessidade de cuidados com a abertura das peneiras e o processo de catação manual.
- 5 - Sugere-se aumentar o número de repetições analíticas em trabalhos próximos ao limite de quantificação do método (0,5 g/100 g).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, P. R. N. Impurezas em sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). 2017. Disponível em: <https://www.ourucum.com.br/single-post/2017/08/10/Impurezas-em-sementes-de-urucum>. Acessado em 26/10/2017.

FRANCO, C. F. O.; FABRI, E. G.; BARREIRO NETO, M.; MANFIOLLI, M. H.; HARDER, M. N. C.; RUCKER, N. C. A. Urucum. Sistema de produção no Brasil. João Pessoa, PB. 2008, 112p.

HORWITZ, W. Evaluation os analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical Chemists*, v. 54, n. 1, p. 67A – 76A, 1982.

MANSIN, P. P.; NEVES, A. P.; FRANCO, C. F. O.; ANDRADE, H. M. Urucum - Boas Práticas Agrícolas. CHR Hansen. Valinhos, SP. [Sem data], 25p.

OLIVEIRA, V. P.; GHIRALDINI, J. E. Beneficiamento do urucu. In: Anais do Seminário de Corantes para Alimentos. ITAL, Campinas, 1988, 89p.

QUATTROCCHI, O. A.; ANDRIZZI, S. A.; LABA, R. F. Introducción a la HPLC. Aplicación y práctica. Buenos Aires, 407p. 1992.