

"OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE CURCUMINA A PARTIR DE
RIZOMAS SECOS DE CÚRCUMA (*Curcuma longa* L.)"

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Parecer
Este exemplar corresponde a redação final
da tese defendida por Maria Célia Mar-
tins e aprovada pela Comissão Julgadora
em 09/08/93.

OK

"OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE CURCUMINA A PARTIR DE
RIZOMAS SECOS DE CÚRCUMA (*Curcuma longa* L.)"

MARIA CÉLIA MARTINS

Engenheiro de Alimentos

PROF. DR. OLAVO RUSIG

Orientador

TESE APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO
DE MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

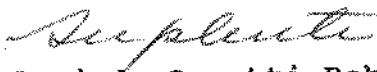
Campinas - 1993

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Olavo Rusig
(orientador)


Prof. Dr. Daniel Barrera Arellano
(membro)


Prof. Dr. Eidiomar Angelucci
(membro)


Profa. Dra. Florinda Orsatti Bobbio
(membro)

Campinas, 09 de agosto de 1993.

À Deus pela fonte de
vida e esperança.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Prof. Dr. Olavo Rusig, pela participação na execução deste trabalho, pelo incentivo e pela atenção.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, pela oportunidade.

À todos do laboratório de Tecnologia Geral, Ana Maria, Alice, Ana Lourdes, Maria José e Nelson, pela disponibilidade com que contribuíram neste trabalho.

Aos colegas de pós-graduação, Carlos, Márcia, Ana Lúcia, Eli, Flávia, Carlos Alberto e Everardo, pelas colaborações e pelo incentivo.

Aos Profs. Florinda O. Bobbio, Daniel B. Arellano e Eidiomar Angelucci, pelas sugestões na redação final desta tese.

Ao Dr. Issao Shirose, da Seção de Estatística do ITAL, pela ajuda nas análises estatísticas.

À Telma e Cristiane, da secretária de pós-graduação da FEA, pelos oportunos esclarecimentos.

Aos funcionários da Biblioteca da FEA e da secretária do DTA, pelo auxílio.

À ABIA - Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos, pelo patrocínio das cópias deste trabalho.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e à Fundação ATLANTIC para Educação e Ciência, pelos auxílios concedidos.

À todos mais que me acompanharam e colaboraram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMO	IX
SUMMARY	XI
I- INTRODUÇÃO	1
II- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1- A PLANTA	3
2.2- PRÉ-PROCESSAMENTO DO RIZOMA	7
2.3- COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO RIZOMA	9
2.4- CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CURCUMINA	10
2.5- MÉTODOS DE ANÁLISE	13
2.6- TOXICOLOGIA E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS E ANTIOXI- DANTES	17
2.7- EXTRAÇÃO DOS PIGMENTOS	19
2.8- ESTABILIDADE DE COR DA CURCUMINA	22
2.9- PRODUTOS DE CÚRCUMA E APLICAÇÕES	31
III- MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1- MATERIAL UTILIZADO	34
3.2- CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL	34
3.2.1-DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CURCUMINA NA CÚRCUMA EM PÓ	34
3.2.2- DETERMINAÇÃO DE UMIDADE	35
3.3- EXTRAÇÃO DE OLEORESINA DE CÚRCUMA	35

3.3.1-	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CURCUMINA NA OLEORESINA DE CÚRCUMA	35
3.3.2-	OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE OLEORESINA DE CÚRCUMA	36
3.3.2.1-	RELAÇÃO CÚRCUMA EM PÓ:SOLVENTE	36
3.3.2.2-	EXTRAÇÕES SUCESSIVAS	37
3.3.2.3-	EXTRAÇÃO À FRIO	37
3.3.2.4-	TEMPO DE EXTRAÇÃO	38
3.3.2.5-	AVALIAÇÃO DE DIFERENTES SOLVENTES .	38
3.3.3-	IDENTIFICAÇÃO DO PIGMENTO	39
3.4-	PURIFICAÇÃO DE OLEORESINA DE CÚRCUMA	39
3.4.1-	PURIFICAÇÃO POR EXTRAÇÃO	40
3.4.2-	PURIFICAÇÃO POR CRISTALIZAÇÃO	47
3.5-	ESTABILIDADE DA CURCUMINA	50
3.5.1-	EFEITO DA TEMPERATURA	51
3.5.2-	EFEITO DO pH	54
3.5.3-	EFEITO DA LUZ	57
3.5.4-	ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
3.5.5-	CÁLCULO DAS CONSTANTES DE VELOCIDADE DE REAÇÃO (K) E TEMPO DE MEIA VIDA ($t_{1/2}$).....	60
IV-	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4.1-	MATERIAL UTILIZADO	62
4.2-	EXTRAÇÃO DE OLEORESINA DE CÚRCUMA	63
4.2.1-	EXTRAÇÃO COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE CÚRCUMA EM PÓ E SOLVENTE	65
4.2.2-	EXTRAÇÕES SUCESSIVAS	67
4.2.3-	EXTRAÇÃO A FRIO	68

4.2.4- DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO	69
4.2.5- EXTRAÇÃO COM DIFERENTES SOLVENTES	72
4.2.6- IDENTIFICAÇÃO DO PIGMENTO	75
4.3- PURIFICAÇÃO DA CURCUMINA	79
4.3.1- PURIFICAÇÃO POR EXTRAÇÃO	79
4.3.2- PURIFICAÇÃO POR CRISTALIZAÇÃO	84
4.4- ESTABILIDADE DA CURCUMINA	91
4.4.1- EFEITO DA TEMPERATURA	91
4.4.2- EFEITO DO pH	100
4.4.2.1-OLEORESINA DE CÚRCUMA	100
4.4.2.1.1- TEMPERATURA DE 7°C	100
4.4.2.1.2- TEMPERATURA DE 37°C	106
4.4.2.2- CRISTAIS DE CURCUMINA	110
4.4.2.2.1-TEMPERATURA DE 7°C	110
4.4.2.2.2-TEMPERATURA DE 37°C	114
4.4.3- EFEITO DA LUZ	120
V- CONCLUSÕES	132
VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	135
ANEXOS	146

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela

1	- Propriedades de solventes de extração	38
2	- Condições de extração na retirada dos princípios oleosos da cúrcuma em pó	42
3	- Condições de extração na retirada dos princípios da oleoresina	45
4	- Condições de extração de oleoresina de cúrcuma a partir de diversos pré-tratamentos	46
5	- Parâmetros de cristalização de curcumina	48
6	- Concentração de soluções usadas no estudo do efeito da temperatura na estabilidade de oleoresina de cúrcuma e curcumina	52
7	- Condições experimentais no estudo de estabilidade em relação à temperatura	53
8	- Concentração de soluções usadas no estudo do efeito do pH na estabilidade de oleoresina de cúrcuma e curcumina antes da adição de solução-tampão	56
9	- Concentração de soluções usadas no estudo do efeito do efeito da luz na estabilidade de oleoresina de cúrcuma e curcumina	58
10	- Condições experimentais no estudo de estabilidade em relação à luz	59
11	- Teor de curcumina e umidade em amostras de cúrcuma em pó	63
12	- Extração de oleoresina de cúrcuma com acetona em diferentes proporções	66

13	- Extrações sucessivas de oleoresina de cúrcuma com acetona	67
14	- Extração de oleoresina de cúrcuma com acetona a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 2 horas	69
15	- Extração de oleoresina de cúrcuma com acetona a $57^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, em diferentes tempos de extração	70
16	- Extração de oleoresina de cúrcuma com diferentes solventes	73
17	- Extração de oleoresina de cúrcuma por diferentes métodos	74
18	- Teor de curcumina em oleoresina obtida por diversos tratamentos	83
19	- Teor de curcumina após processo de purificação por cristalização	89
20	- Constantes de velocidade de reação (K), meia-vida ($t_{1/2}$) e perda de curcumina em tratamento térmico ..	96
21	- Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma estocada a 7°C , em diversos pHs	101
22	- Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma estocada a 37°C , em diversos pHs	106
23	- Perdas de curcumina em cristais de curcumina estocados a 7°C , em diversos pHs	110
24	- Perdas de curcumina em cristais de curcumina estocados a 37°C , em diversos pHs	114
25	- Perda de curcumina, sob diferentes condições, após 30 dias	124

26	- Constantes de velocidade de reação (K) e meia-vida ($t_{1/2}$) para degradação de curcumina em relação a luz (1200 lux)	125
----	---	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

1	- Estrutura dos curcuminóides	12
2	- Dependência de separação em relação aos solventes de desenvolvimento	16
3	- Dissociação da curcumina em soluções aquosas	25
4	- Degradação alcalina da curcumina	26
5	- Degradação fotoquímica da curcumina	30
6	- Recuperação de curcumina em função do tempo de extração com acetona, à temperatura de $57^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$	71
7	- Cromatogramas de extratos etanólicos de oleoresina de cúrcuma e de curcumina eluídos com benzeno-meta- nol (80:6)	77
8	- Cromatograma de extratos etanólicos de oleoresina de cúrcuma e de curcumina, após pulverização com vanilina-ácido sulfúrico (5:95)	78
9	- Perda de curcumina em oleoresina de cúrcuma e cris- tais de curcumina, em diferentes temperaturas, por 3 horas	97
10	- Perda de curcumina em oleoresina de cúrcuma, a 100°C e 125°C	98
11	- Perda de curcumina em cristais de curcumina, a 100°C e 125°C	99
12	- Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma esto- cada a 7°C , em diversos pHs	105

13	- Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma esto-	
	cada a 37°C, em diversos pHs	109
14	- Perdas de curcumina em cristais de curcumina esto-	
	cados a 7°C, em diversos pHs	113
15	- Perdas de curcumina em cristais de curcumina esto-	
	cados a 37°C, em diversos pHs	117
16	- Mecanismo de degradação alcalina de curcumina	119
17	- Perda de curcumina em oleoresina de cúrcuma sob	
	a ação da luz	128
18	- Perda de curcumina em cristais de curcumina sob a	
	ação da luz	129

RESUMO

Nesse trabalho foi obtido um corante natural - curcumina, de coloração amarela, a partir de rizomas de cúrcuma (*Curcuma longa* L.). O corante foi obtido na forma de oleoresina de cúrcuma e na forma de cristais de curcumina. A estabilidade do pigmento nas duas formas foi estudada em função dos efeitos do calor (50°C a 125°C), pH (2,4 a 7,7) e luz (1200 lux), bem como a combinação de alguns desses fatores.

A oleoresina de cúrcuma foi extraída com diversos solventes que tiveram seu poder de extração avaliados. Utilizando acetona como solvente de extração procurou-se estabelecer parâmetros ótimos na obtenção da oleoresina. A curcumina purificada foi obtida por métodos de purificação que consistiram de extrações sucessivas com solventes de diferentes polaridades, cristalização por precipitação ácida-alcalina e cristalização em baixa temperatura.

O teor médio de curcumina na cúrcuma em pó foi 5,4%, com 9,6% de umidade. Acetona foi o solvente de extração de oleoresina de cúrcuma mais apropriado, na proporção cúrcuma em pó:solvente de 1:6 e extração a temperatura de refluxo por 90 minutos, fornecendo recuperação de curcumina de 89,7%. Cristalização de curcumina em etanol a -8°C forneceu cristais de curcumina com 84,3% de pureza, com rendimento, em relação à cúrcuma em pó, de 2,15%.

O efeito da temperatura, pH e luz sobre a estabilidade da curcumina foi estudado pela variação da absorbância com o tempo. A partir dessa variação, quantificaram-se as perdas de curcumina e determinaram-se os valores de velocidade da reação e o tempo de meia vida em cada sistema. A luz foi o agente mais destrutivo, seguido de pH; a temperatura foi o agente menos efetivo na perda de cor.

SUMMARY

An investigation was undertaken to obtain the natural colorant - curcumin, of yellow colour, from rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L.). The colorant was obtained as turmeric oleoresin and crystals of curcumin. The stability of turmeric oleoresin and curcumin was studied in function of the effects of temperature (50°C to 125°C), pH (2,4 to 7,7) and light (1200 lux), just like the act of combination from some of these factors.

The turmeric oleoresin was extracted with different kind of solvents which had their power of extraction estimated. When acetone was used as like extration solvent it was necessary to set good parameters to obtain turmeric oleoresin. The curcumin was obtained by purification system which consists in successive extractions with solvents of different polarities and crystallization by low temperature.

The average curcumin content in turmeric powder was 5,4%, with 9,6% moisture. Acetone was found to be suitable for extracting the oleoresin from turmeric, with a turmeric powder to solvent ratio 1:6 and extraction by reflux for 90 minutes, with recovery of curcumin of 89,7%. Crystallisation from ethanol at -8°C, yielded curcumin of 84,3% purity. The process furnishes curcumin in 2,15% yield.

The effect of temperature, pH and light on the stability of the pigment of turmeric and purified crystals were studied by measuring the loss of absorbance with time and, there from, determining the values of reaction rate and periods of half life for the curcumin in each system. Light was the most destructive agent, followed by pH. Temperature was less effective in promoting loss of colour.

I - INTRODUÇÃO

A cor é um dos principais fatores para determinar a aceitabilidade de um produto alimentício. Gostar ou não de um determinado alimento está, muitas vezes, relacionado com sua coloração.

A cor naturalmente presente em um alimento pode ser degradada pelo processamento e pelas condições de estocagem e, portanto, para se obter produtos atrativos e de coloração padronizada, corantes artificiais poderão ser adicionados durante o processamento.

Nem todos os corantes artificiais são inócuos e, nos últimos anos, alguns deles tiveram seu uso proibido em função da descoberta de seus efeitos tóxicos ao homem. A tendência mundial é limitar ao máximo o uso desses corantes, substituindo-os pelos corantes naturais.

Entre as fontes de corante de origem vegetal não tóxico, encontra-se a cúrcuma, um rizoma de cultivo relativamente simples, que vem despertando interesse pela coloração amarela de um de seus componentes - a curcumina, que pode substituir corantes sintéticos, especificamente a tartrazina (GOVINDARAJAN, 1980).

A possibilidade de desenvolver e aprimorar a qualidade de corantes derivados de cúrcuma, visando um nível maior de aplicação em produtos alimentícios representa, para o Brasil, produtor do rizoma de cúrcuma, uma excelente perspectiva de mercado.

Com esse objetivo, a otimização do rendimento de extração de oleoresina de cúrcuma, a obtenção de curcumina em níveis de pureza de interesse comercial e o conhecimento da influência de fatores como temperatura, pH e luz, assumem grande importância na utilização da variedade brasileira de cúrcuma.

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - A PLANTA

O gênero *Curcuma*, pertencente à família *Zingiberaceae*, é constituído por cerca de 70 espécies rizomatosas de plantas herbáceas distribuídas pela Índia, China, Formosa, Malásia, Indonésia, Java, Filipinas, Caribe, Norte da Austrália e América do Sul (MATHAI, 1979).

A espécie *Curcuma longa* L. é a que possui maior importância comercial e utilização em alimentos (GOVINDARAJAN, 1980).

Pela sua cor amarela, a cúrcuma tem atraído a atenção há muito tempo. É mencionada em registros de livros assírios desde 600 A.C. como uma planta indiana de cor amarela e sabor amargo quando mastigada. Nas memórias de Marco Polo, de 1280, a cúrcuma é citada como uma cultura vegetal das regiões da China com cheiro e cor de açafrão, mas que não é açafrão (PARRY, 1969b).

A cúrcuma é nativa do sul e sudeste da Ásia e provavelmente, teve sua origem nas florestas tropicais do sul da Índia, tendo se propagado por milhares de anos. A *Curcuma longa* L. foi trazida para a América do Sul pelos espanhóis (GOVINDARAJAN, 1980).

A *Curcuma longa* L. é descrita por CORREA (1975) como uma "herba de 120-150 cm de altura, rizomas tuberculosos de centro alongado e laterais arredondadas, duros, de cor variável interiormente, predominando o laranja; folhas grandes (pecíolo tão comprido como o limbo) oblongo-lanceoladas, aromáticas quando amassadas, flores amareladas, longo-pedunculadas, dispostas em espigas compridas. Os caules são anuais, emergem das gemas do rizomas depois do florescimento e, completando o ciclo vegetativo, amarelecem e morrem".

O rizoma subterrâneo consiste de duas partes distintas, o rizoma primário ou raiz-mãe, uma extensão de talo e muitos rizomas secundários longos e cilíndricos descendendo do rizoma principal e conhecidos como dedos. As duas partes são diferenciadas no comércio, sendo a forma de dedos preferida no mercado (MELCHIOR & KASTNER, citado por GOVINDARAJAN, 1980)

Os rizomas contém amido, óleo essencial e uma matéria corante, a curcumina, amarelo alaranjada (PARRY, 1969a).

A cúrcuma tem sido usada há muitos séculos como tintura vegetal para colorir alimentos e bebidas, como condimento e por sua ação digestiva, atuando nas disfunções da bile. Tem também utilização na cosmética feminina e é usada ainda nas práticas religiosas da Índia e sul da Ásia (GOVINDARAJAN, 1980).

Segundo PEREIRA (1926), a raiz atua contra inflamações e

dores de estômago, mas em doses altas produz embriaguez e delírio.

A cúrcuma é também conhecida como açafroeira, açafirão da terra, açafroeira da Índia, batatinha amarela, gengibre dourada e mangarataia em algumas regiões do Brasil. Na Índia é conhecida como haldi, nas Filipinas como dilau, na Alemanha como Gelbwürzel e Gurgemei, na França como Safran des Indes e Souchet des Indes, como jengibrilli em Cuba e como turmeric em países de língua inglesa (CORREA, 1975).

Existem poucas informações sobre a produção de cúrcuma em diferentes países. Sabe-se, entretanto, que a Índia é o maior produtor mundial com produção, nos anos 78-79, de 120 a 145 mil toneladas, sendo que 90% desse valor é consumido internamente e o restante exportado. Os maiores importadores de cúrcuma da Índia são : Irã, Líbia, Estados Unidos e Japão (GOVINDARAJAN, 1980).

A cúrcuma pode ser cultivada em regiões de clima tropical e subtropical com temperaturas elevadas e chuvas abundantes. Prefere solos frescos, arenosos, férteis e ricos em matéria orgânica. Solos compactos dificultam a formação dos rizomas. Os solos úmidos e encharcados devem ser evitados (DONALISIO, 1980). As regiões de cultivo no Brasil são Goiás, Mato Grosso e São Paulo.

A classificação e seleção das variedades de cúrcuma come-

çou nos anos 70, na Índia. Em outros países há poucas informações sobre a cultura de cúrcuma (GOVINDARAJAN, 1980). As variedades brasileiras não possuem, até o presente trabalho, classificação oficial.

A cúrcuma se propaga normalmente por via assexuada através dos rizomas, apresentando poucas variedades que se distinguem principalmente pela cor interna dos rizomas, sendo preferível cultivar a que apresente coloração mais intensa. No plantio a propagação é feita através de gomos: pedaços de rizomas destacados do rizoma principal. Os gomos devem receber tratamento contra bacteriose e ser colocados em pré-germinação. Dentro de 15 a 30 dias as gemas se desenvolvem e as mudas mais vigorosas e uniformes são destinadas ao plantio. No campo o plantio é feito com espaçamento de um metro entre linhas e quarenta centímetros entre plantas. A cúrcuma é uma planta exigente em nutrientes, devendo receber adubação mineral complementar para que proporcione colheitas compensadoras (DONALISIO, 1980).

GOVINDARAJAN (1980) relata doenças em variedades indianas, assim como seu tratamento, destacando manchas nas folhas causadas por fungos que afetam o rendimento pela deterioração do rizoma formado. A rotação de culturas é recomendada para evitar a disseminação de doenças.

KRISHNASWAMY et alii (1971) encontraram alta incidência de aeróbios termófilos e esporos de aeróbios mesófilos em rizomas

de cúrcuma, assim como um pequeno número de *Staphilococci*, *Clostridium perfringens* e baixa incidência de coliformes em geral. O controle de contaminações microbiológicas pode ser efetuado por fumigação, radiação ou aquecimento, o que implica em perdas de cor da cúrcuma (MATTADA et alii, 1974).

No Brasil, a época de plantio vai de agosto a setembro e os rizomas podem ser colhidos de 6 a 10 meses após, dependendo das condições climáticas, quando a parte aérea começa a amarelecer e secar. A colheita pode ser feita manualmente, revolvendo-se o solo e expondo os rizomas que serão colhidos. Quando os rizomas se destinam à extração de oleoresina, devem ser colhidos no segundo ano, com dois ciclos de idade. Os rizomas são lavados, o rizoma mãe e os dedos são separados em lotes e preparados para serem processados. O rendimento em rizomas frescos é de 10 ton/ha (DONALISIO, 1980). SHOLTO (citado por GOVINDARAJAN, 1980), apresenta um rendimento em rizomas secos, de diversas variedades indianas, entre 0,46 a 3,64 ton/ha.

2.2 - PRÉ-PROCESSAMENTO DO RIZOMA

O processamento dos rizomas consiste de secagem solar ou artificial e posterior moagem. Os rizomas podem ser fatiados (2 a 5mm). A secagem é feita pela exposição do material ao sol, com os rizomas colocados em duas ou três camadas, uma única camada é evitada para minimizar os efeitos do sol. A secagem é lenta, levando de 10 a 15 dias para se completar. Quando seco, o rizoma

se torna duro, com cor amarela uniforme e umidade em torno de 5% (DONALISIO, 1980).

Anteriormente ao processo de secagem, os rizomas podem ser submetidos ao processo de cura, que é essencialmente um cozimento do rizoma em água a fim de gelatinizar o amido. O cozimento diminui o tempo de secagem, destrói enzimas oxidativas e reduz a carga microbiana (GOVINDARAJAN, 1980).

Em relação aos pré-tratamentos dados aos rizomas, SAMPATHU et alii (1988) estudaram o efeito de três diferentes métodos: cozimento em água, cozimento em água alcalinizada e não cozimento de rizomas inteiros e fatiados, em relação ao tempo de secagem, teor de oleoresina e curcumina. Cozimento e/ou fatiamento ajudaram a reduzir drasticamente o período de secagem, sem diferença no teor de curcumina. A eficiência de extração da curcumina em acetona foi maior em amostras não cozidas (92-94%), que em cozidas (76-84%).

Outros estudos, envolvendo pré-tratamentos na preparação dos rizomas de cúrcuma foram realizados por PRASAD & SINGH (1980) e KRISHNAMURTHY et alii (1975), como: fervura em água, fervura em salmoura a 5%, fervura em solução a 0,1% de carbonato de sódio, vapor, "pelling" e fatiamento, seguidos por secagem mecânica e ao sol. Observaram que os pré-tratamentos não causaram diferenças significativas no teor de curcumina e óleo volátil, diminuíram o tempo de secagem e propiciaram melhor aparência ao produto seco.

2.3 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO RIZOMA

O rizoma da *Curcuma longa* L. contém:

a) óleo essencial: 1,3 a 5,5% segundo GUENTHER (1952), 2,8 a 6,0% segundo MATHAI (1976) e, no máximo 2%, segundo RUPE (1970), constituído predominantemente de cetonas sesquiterpênicas: ar-turmerona e turmerona (cerca de 59%); um percentual menor de terpenos com baixo ponto de ebulição: d-sabineno (0,6%), d-alfa-felandreno (1%), cineol (1%) e borneol (0,5%) e sesquiterpenos com alto ponto de ebulição: zingibereno (25%) (KHALIQUE & DAS, 1968). O óleo é responsável pelo aroma da cúrcuma e não tem valor na indústria de temperos, exceto quando utilizado em formulações de "curry" ou em molho de mostarda (KRISHNAMURTHY et alii, 1976).

b) umidade: 9,0 - 19,0%

c) amido: 30,0 - 50,0%

d) pentosanas: 4,7%

e) proteína bruta: 6,0 - 11,0%

f) fibra: 2,0 - 6,0%

g) substância corante - curcumina: 2,5 - 8,1%

(LEACH, 1904; MATHAI, 1979 e GOVINDARAJAN, 1980).

Não há relação entre o teor de óleo essencial e de curcumina. As diferenças no teor de curcumina são devidas ao local de plantio, práticas agrícolas, fertilização e maturação dos rizomas (KRISHNAMURTHY et alii, 1975). Segundo MATHAI (1976), o teor de amido dos rizomas possivelmente se relaciona

com a maturação.

MANGALAKUMARY & MATHEU (1986) estudaram a localização e distribuição dos diferentes constituintes: curcumina, óleo essencial, amido e polifenóis no interior dos rizomas de cúrcuma, em relação ao grau de maturação e crescimento. Concluíram que curcumina e óleo essencial estão distribuídos por todo o rizoma. Amido é encontrado na parte central e os polifenóis estão localizados nos feixes vasculares e nas gemas dos rizomas. Segundo KRISHNAMURTHY *et alii* (1975), o conteúdo de curcumina no centro do rizoma é o dobro do teor da casca (córtex).

2.4 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CURCUMINA

DAUBE (1870) foi um dos primeiros pesquisadores a obter cristal de curcumina, com ponto de fusão de 165°C. Métodos de síntese do pigmento foram citados por JACKSON (1881) e em outros trabalhos (MAYER, 1943 e PABON, 1964). CIAMICIAN & SILBER (1887) identificaram o corante como o diferuloilmetano: 1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta -1,6-dien-3,5-diona, de fórmula bruta $C_{21}H_{20}O_6$.

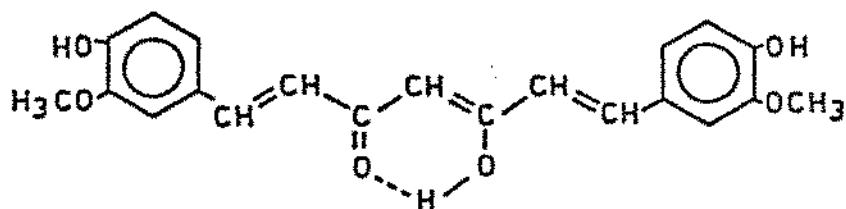
PERKIN & SAMUEL (1904) descreveram um método para obter curcumina pura a partir de rizomas de cúrcuma, com rendimento de 0,65%, por precipitação com sal de chumbo e purificação por decomposição do sal.

SRINAVASAN (1953) identificou dois derivados desmetoxilados da curcumina, a desmetoxi-curcumina e a bis-desmetoxi-curcumina, através de técnica de cromatografia em coluna, utilizando sílica gel e benzeno como eluente. A estrutura da curcumina e seu dois derivados (curcuminóides) é apresentada na Figura 1.

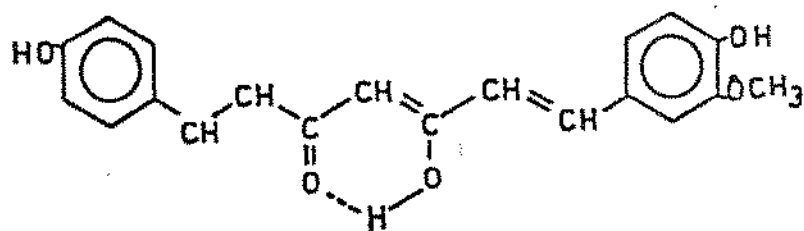
Os três componentes, curcumina, desmetoxi-curcumina e bis-desmetoxi-curcumina têm sido estimados por cromatografia de camada delgada na relação de 60:30:10 (PEROTTI, 1975), 49:29:22 (KRISHNAMURTHY et alii, 1976) e 47:24:29 (JENTZSCH et alii, 1970) apresentando manchas de coloração amarelo-avermelhado, amarelo-alaranjado e amarelo, respectivamente. Segundo GOVINDARAJAN (1980), todas as manchas apresentam fluorescência amarela sob luz ultravioleta. O espectro de fluorescência apresenta excitação a 435 nm e emissão a 520 nm.

Os curcuminóides apresentam ponto de fusão de 183°C, 168°C e 224°C e pesos moleculares de 368; 330 e 308, respectivamente (GOVINDARAJAN, 1980).

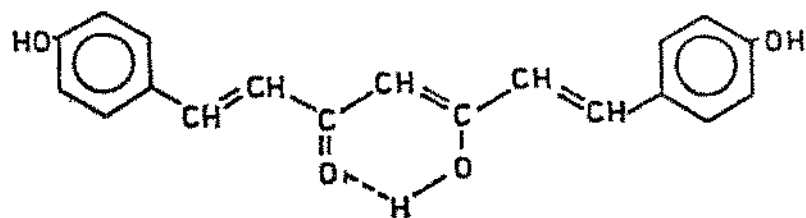
O espectro de absorção tem pequena variação para os três componentes: 429 nm para a curcumina, 424 nm para a desmetoxi-curcumina e 419 nm para a bis-desmetoxi-curcumina. Portanto, a prática usual de se expressar o total de cor como curcumina, na região de 425 nm, se justifica por motivos práticos (KRISHNAMURTHY et alii, 1976).



CURCUMINA



DESMETOXI-CURCUMINA



BIS-DESMETOXI-CURCUMINA

Figura 1 - Estrutura dos curcuminóides.

Fonte: GOVINDARAJAN (1980).

A curcumina é um pó cristalino, pouco solúvel em água, éter de petróleo e benzeno; solúvel em etanol, metanol, ácido acético glacial e propileno glicol, e muito solúvel em acetona e éter etílico. Na forma de pó fino pode ser dispersa em óleo (PEROTTI, 1975).

A reação mais característica da cúrcuma (e curcumina) é a formação de cor vermelha quando misturada com ácido bórico, e é usada como teste de identidade de cúrcuma (TAKAHASHI, 1987). Segundo JANBEN & GOLE (1984), a cor vermelha se deve à formação de compostos chamados rubrocurcumina e rosocianina. Extratos de cúrcuma apresentam fluorescência laranja quando misturados com ácido bórico, o que não acontece com a curcumina purificada.

2.5 - MÉTODOS DE ANÁLISE

Para quantificação do teor de curcumina no pó de cúrcuma a ASTA (American Spice Trade Association) desenvolveu um método simples, baseado na medida de absorbância a 425 nm de um extrato etanólico da amostra e de uma solução padrão de cúrcuma. O método, descrito por TAKAHASHI (1987), é recomendado nas especificações da WHO/FAO para identidade da cúrcuma como corante para alimentos (WHO, 1976). O método apresenta problemas na reprodutibilidade, causados por incompleta extração do corante, instabilidade da curcumina à luz solar, variação do valor de absorção com o pH do solvente, mas se presta à análise de rotina. Alguns autores recomendam quantificação de curcumina através de

resolução cromatográfica (JACOB & VERGHESE, 1981 e SRINAVASAN, 1953).

As avaliações de cor e solvente residual na oleoresina de cúrcuma são feitas através das especificações da EOA (Essential Oil Association of USA), descrito por TAKAHASHI (1987). O pigmento é quantificado pelo seu espectro de absorção e o solvente residual por cromatografia gasosa.

Quando não se dispõe de padrão de curcumina, a quantificação do pigmento pode ser feita utilizando-se o valor de absortividade em etanol $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1607$ (TAKAHASHY, 1987 e WHO, 1986).

O teor de curcumina na oleoresina de cúrcuma pode também ser obtido através de construção de curva-padrão, utilizando curcumina pura e ácido acético glacial (TAKAHASHI, 1984 e WHO, 1961).

Métodos de separação e quantificação dos pigmentos de cúrcuma, utilizando HPLC com detecção de fluorescência, foram descritos por TONNESEN & KARLSEN (1983) e ROUSEF (1988).

Detecção de corantes amarelos sintéticos (ácidos e básicos) e curcumina em mostarda é relatado por LEHMAN *et alii* (1971). O método é baseado na extração, com acetona, de pigmentos

lipossolúveis e curcumina. Pigmentos ácidos são extraídos com amônia diluída e purificados por adsorção sobre poliamida. Os pigmentos lipossolúveis, o extrato dos pigmentos ácidos e os curcuminóides são separados por cromatografia em camada delgada com clorofórmio-metanol (90:5) e identificados.

JANBEN & GOLE (1984) otimizaram a separação dos curcuminóides da cúrcuma por cromatografia em camada delgada, utilizando diversas combinações de solventes de desenvolvimento. Um extrato metanólico da amostra sobre sílica gel em clorofórmio-ácido acético (80:20) foi a mistura que apresentou melhor resultado (Figura 2).

IMAMURA *et alii* (citado por GOVINDARAJAN, 1980) relatam a detecção de pigmentos amarelos em margarina, incluindo extrato de cúrcuma. O método é baseado na desidratação da margarina derretida com sulfato de sódio anidro, dissolução da gordura em acetona e remoção desta por resfriamento. Os corantes sintéticos e naturais são separados e identificados por cromatografia em camada delgada com hexano-acetona-etanol (20:6:1).

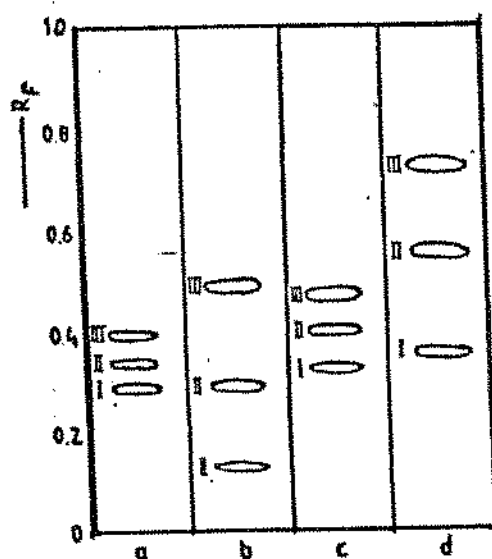


Figura 2 - Dependência de separação em relação aos solventes de desenvolvimento.

a) benzeno-clorofórmio-etanol (45:45:10)

b) clorofórmio- ácido acético (90:10)

c) clorofórmio- etanol (90:10)

d) clorofórmio- ácido acético (80:20)

I) bis-desmetoxi-curcumina II) desmetoxi-curcumina

III) curcumina

Fonte: JANBEN & GOLE (1984).

Curcuma longa L. pode ser adulterada com outras espécies, como *Curcuma aromatica* e *Curcuma xedoaria*. A adulteração pode ser detectada por separação dos componentes terpênicos do óleo volátil, por cromatografia em camada delgada. Os rizomas de outras espécies de cúrcuma não contêm curcuminóides, mas outras substâncias flavonóides (RAGHUVeer & GOVINDARAJAN, 1979).

A necessidade de se detectar curcumina em alimentos surgiu quando cúrcuma foi usada para simular outras cores amarelas em alimentos, por exemplo gema de ovo em produtos de confeitaria. O método oficial, baseado na formação de cor vermelha com ácido bórico não se mostrou satisfatório, devido à interferência de outros compostos. Um método alternativo usando espectrofluorímetro, que isola a excitação específica de curcumina a 435 nm ou emissão a 520 nm, foi publicado por KARASZ e BOSCHUS (1973). Não há interferências com outros componentes amarelos como: caroteno, tartrazina, páprica e urucum.

2.6 - TOXICOLOGIA E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS E ANTIOXIDANTES

A WHO (1961, 1974 e 1986) publicou especificações para a curcumina como corante para alimentos e recomendações para a IDA (Ingestão Diária Aceitável) de 0,0-0,1 mg/kg de peso corpóreo. Para a cúrcuma em pó, com teor médio de 3% de curcumina, a IDA é de 2,5 mg/kg de peso corpóreo.

Em 1939, o Decreto nº 10.295 do Estado de São Paulo,

regulamentou o uso de substâncias corantes, classificando a cúrcuma "como vegetal inócuo". A NTA 70 (Norma Técnica de Alimentos) do Decreto nº 12.486 do Estado de São Paulo, de 20/10/78, especifica a cúrcuma como condimento.

O Decreto 55.871 de 1965 - Resolução nº 04 de 24/11/88 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, regulamenta o uso de aditivos intencionais em alimentos, assim como seus limites máximos. A cúrcuma, além de condimento, é um aditivo intencional pertencente à classe dos corantes naturais, não tem limite máximo de uso como corante natural e seu código de rotulagem é C.I.

Estudos toxicológicos mostraram que o curcuminato de sódio tem baixa toxicidade e a curcumina causa aberração cromossômica em células mamárias, embora não se conheça efeito similar "in vivo" (RAMPRASAD & SIRSI, 1957 e GOODPASTURE & ARRHIGI, 1976).

Ratos alimentados com cúrcuma (500 mg/kg peso corpóreo) e o extrato alcoólico de cúrcuma (60 mg/kg peso corpóreo) foram examinados por 3 gerações. Não foram verificadas diferenças no índice de fertilidade, gestação, peso dos filhotes e lactação entre os animais experimentais e controle (BHAVANISHANKAR & MURTHY, 1987).

Alguns efeitos benéficos da cúrcuma como ação anti-

inflamatória do curcuminato de sódio (GHATAK & BOSU, 1972) e antibactericida (RAMPRASAD & SIRSI, 1957), foram descritos.

Segundo PEROTTI (1975), a curcumina tem influência benéfica em certas afecções hepáticas, estimula a secreção biliar, favorecendo sua emissão no trato intestinal e ajuda a controlar o colesterol no sangue.

RAMASWAMY e BONERJEE (citado por GOVINDARAJAN, 1980) relatam a ação antioxidante da cúrcuma, considerando-a compatível com a ação antioxidante do BHT, BHA e ácido cítrico. Segundo RIMPLER *et alii* (1970), a cúrcuma em níveis de 0,5 a 1,0 % reduz consideravelmente a formação de peróxidos em óleo de amendoim, em testes de estabilidade.

2.7 - EXTRAÇÃO DOS PIGMENTOS

JANAKI & BOSE (1967) obtiveram curcumina cromatograficamente pura por extração com éter de petróleo (40-60°C), seguida de extração com benzeno e cristalização em etanol, com rendimento de 1,1%.

GEORGE *et alii* (1981) analisaram comparativamente etanol, acetona e dicloro etileno (DCE) na obtenção de oleoresina de cúrcuma por percolação a frio. Observaram que o rendimento de extração foi acetona > etanol > DCE, e a habilidade do solvente em concentrar curcumina no extrato foi DCE > etanol > acetona.

RAJARAMAN *et alii* (1981) compararam dicloro etileno, acetato de etila e acetona na obtenção de oleoresina de diversos temperos por percolação a frio. Em relação à cúrcuma, concluíram que o rendimento de extração foi acetona > acetato de etila > DCE.

KRISHNAMURTHY *et alii* (1976) utilizaram acetona, etanol e dicloro etileno na extração de oleoresina de cúrcuma por percolação a frio e em Soxhlet. O rendimento de extração foi acetona > etanol = DCE. Os dois métodos apresentaram boa recuperação de curcumina (> 85%).

SASTRI (citado por VERGHESE, 1984) isolou curcumina da cúrcuma, usando diferentes solventes e condições de extração. O método mais eficiente consistiu na extração de cúrcuma em pó com etanol, filtração, lavagem do extrato com éter de petróleo e cristalização em etanol. Extração da cúrcuma com acetona, seguido de extração com éter de petróleo, forneceu o melhor produto (rendimento de 1,2% e ponto de fusão 175 - 179°C).

Os óleos voláteis e fixos, presentes na oleoresina, são responsáveis pelas características de aroma e amargor da cúrcuma e indesejáveis no produto final, podendo ser removidos por extração com solventes orgânicos, diferentes dos utilizados na preparação da oleoresina, por filtração ou centrifugação. O produto resultante é conhecido como cúrcuma sem amargor ou desengordurada (GOVINDARAJAN, 1980).

Na EUA Pat.4.368.208 (1983) obteve-se oleoresina de cúrcuma por extração, filtração e remoção do solvente por destilação a vácuo. A oleoresina foi purificada por cristalização em isopropanol a 0 °C e filtração a vácuo. O filtrado foi seco a 55°C sob vácuo e a curcumina apresentou 94% de pureza.

Na CHINA Pat. 87.101.355 (1989) o método de extração de curcumina consistiu na extração do óleo volátil do pó de cúrcuma por destilação com vapor de água, extração do pigmento com etanol, tratamento com éter de petróleo e purificação por cristalização. Para 100 kg de cúrcuma em pó foram obtidos 5 Kg de curcumina.

A EUA Pat. 3.340.250 (1967) apresenta um processo para isolar curcumina. O rizoma sofre extração com solventes como hexano, heptano ou éter de petróleo que retiraram do tempero os componentes oleosos com princípios amargos, o extrato sofre nova extração com solventes como metanol, isopropanol, acetona e dicloro etileno, que retiram do extrato a oleoresina com pigmentos.

Em patente alemã de 1938, (Ger. Pat. 658.958, citado por VERGHESE, 1984), a curcumina foi obtida por extração com solventes orgânicos sem separação dos constituintes oleosos. O extrato foi tratado com álcali e a solução alcalina sofreu adição de ácido para precipitar o pigmento.

VERGHESE (1984) considera que o melhor método para extrair pigmentos de cúrcuma é por extração dupla, inicialmente com um solvente que retire o óleo sem causar danos aos pigmentos e, a seguir, com outro solvente que extraia o pigmento da cúrcuma desengordurada. Esses passos podem ser invertidos.

Na ALEMANHA Pat.2.924.345 (1981) rizomas secos de cúrcuma sofreram extração com metanol a 40 °C por 2 horas. Após filtração e lavagem do resíduo, o filtrado foi misturado com igual volume de água e extraído com éter de petróleo. O óleo essencial foi isolado da fase etérea, e o material com alto teor de curcumina foi removido da fase aquosa. O rendimento foi de 6,1% de óleo essencial e 6,3% de extrato de curcumina contendo 51,95% de curcumina.

VERGHESE (1989), isolou curcumina de rizomas de *Curcuma longa* L. por extração com acetato de etila, separação do solvente e precipitação do pigmento a 25°C. A mistura de pigmentos proporcionou rendimento de 2,77%, com teor de curcumina de 90,42%.

2.8 - ESTABILIDADE DA COR DA CURCUMINA

Segundo PEROTTI (1975), a curcumina é bastante estável ao calor e em lugar fresco se mantém inalterada por anos. O pigmento não é afetado pelo aquecimento (GOVINDARAJAN, 1980).

Soluções alcoólicas de curcumina apresentam coloração avermelhada em condições alcalinas e na presença de ácido bórico (PEROTTI, 1975). Segundo AUSLANDER *et alli* (1977), a curcumina em meio ácido (pH 4-5) mantém uma cor amarela e a adição de álcali muda a cor para marrom avermelhado. O pigmento é usado em química como indicador de mudança de pH.

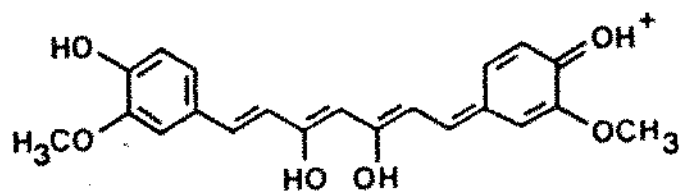
A cor e a absorbância decrescem rapidamente com o tempo quando o pH aumenta de 7 para 10. A absorbância se mantém constante entre pH 4 e 7 (GOVINDARAJAN, 1980).

Um estudo cinético da degradação de curcumina em relação a mudanças de pH foi apresentado por TONNESEN & KARLSEN (1985b). Soluções de curcumina em metanol ($2 \cdot 10^{-4}$ g/mL e $4 \cdot 10^{-5}$ g/mL) foram diluídas em soluções-tampão (pH 1 a 11) e incubados a 31°C ao abrigo da luz. A curcumina utilizada foi sintetizada em laboratório e o teor de curcumina determinado em intervalos de tempo por HPLC. Os resultados obtidos pelos autores mostraram que a taxa de degradação da curcumina, nas duas concentrações utilizadas, não diferiu significativamente a pH maior que 7. Em pH menor que 7, a reação de degradação é aproximadamente 100 vezes mais rápida na solução diluída, provavelmente devido à baixa solubilidade da curcumina nessa faixa de pH. A cinética da reação, em todas as faixas de pH, foi de segunda ordem e a forma de degradação da curcumina nas soluções aquosas indicou que diversos equilíbrios ácido-base estão envolvidos conforme sugerido na Figura 3.

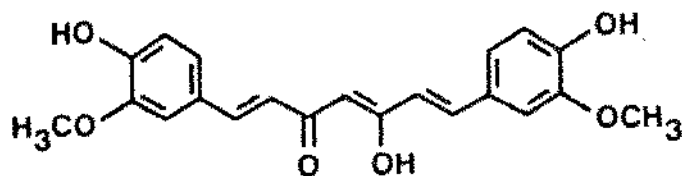
Em pH menor que 1 a curcumina apresenta uma cor vermelha que indica a forma protonada (H_4A^+). Entre pH 1 e 7, apresenta cor amarela, nessa faixa de pH a maioria das moléculas de curcumina está na forma neutra (H_3A). Em pH maior que 7,5 a cor muda para laranja avermelhado. Analisando o perfil da curva de pH x $K(M^{-1}h^{-1})$ em pH maior que 7, os autores concluíram que em pH 7,75-7,80 a curva apresenta a primeira inflexão, indicando o valor de pKa para dissociação do enol. A curva de pH apresenta um mínimo em pH 8,20-8,50, o que pressupõe um equilíbrio nas formas H_3A , H_2A^- e HA^{2-} . Provavelmente o mínimo na curva de pH se deva ao efeito estabilizador da molécula de curcumina na forma H_2A^- . O segundo ponto de inflexão da curva é observado em pH $8,55 \pm 0,05$ e o terceiro em pH $9,05 \pm 0,05$. Esses pontos indicam o valor de pKa para dissociação dos fenóis da molécula de curcumina (TONNESEN & KARLSEN, 1985b). Os autores concluíram que, para se obter ótima estabilidade em preparações contendo curcumina, o pH deve ser menor que 7, embora nessa região a solubilidade da curcumina em soluções aquosas seja baixa. Em pH maior que 7 a molécula de curcumina é extremamente instável.

TONNESEN & KARLSEN (1985a) também estudaram a degradação química da curcumina em pH maior que 7. Pela degradação alcalina da curcumina são formados ácido ferúlico e feruloilmetano, na primeira etapa de degradação, a seguir há formação de vanilina e acetona por fissão retro-aldólica, conforme mostrado na Figura 4 (ROUGHLEY & WHITING, citado por TONNESEN & KARLSEN, 1985a)

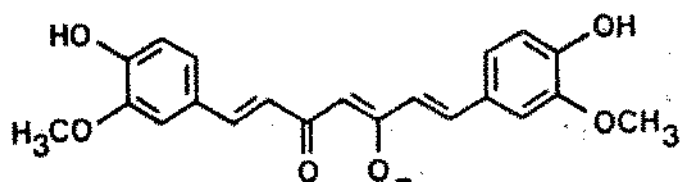
H_4A^+



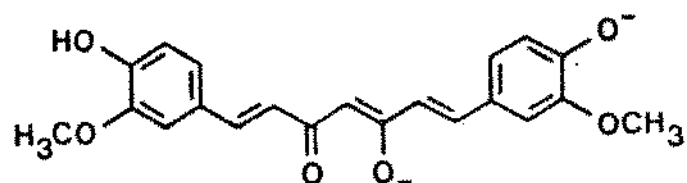
H_3A



H_2A^-



HA^{2-}



A^{3-}

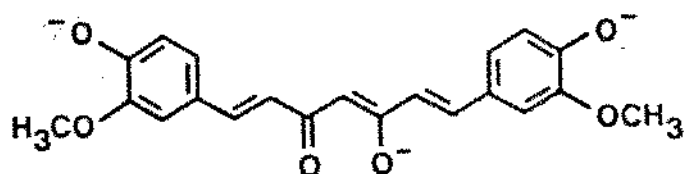


Figura 3 - Dissociação de curcumina em soluções aquosas.

Fonte: TONNESEN & KARLSEN (1985b).

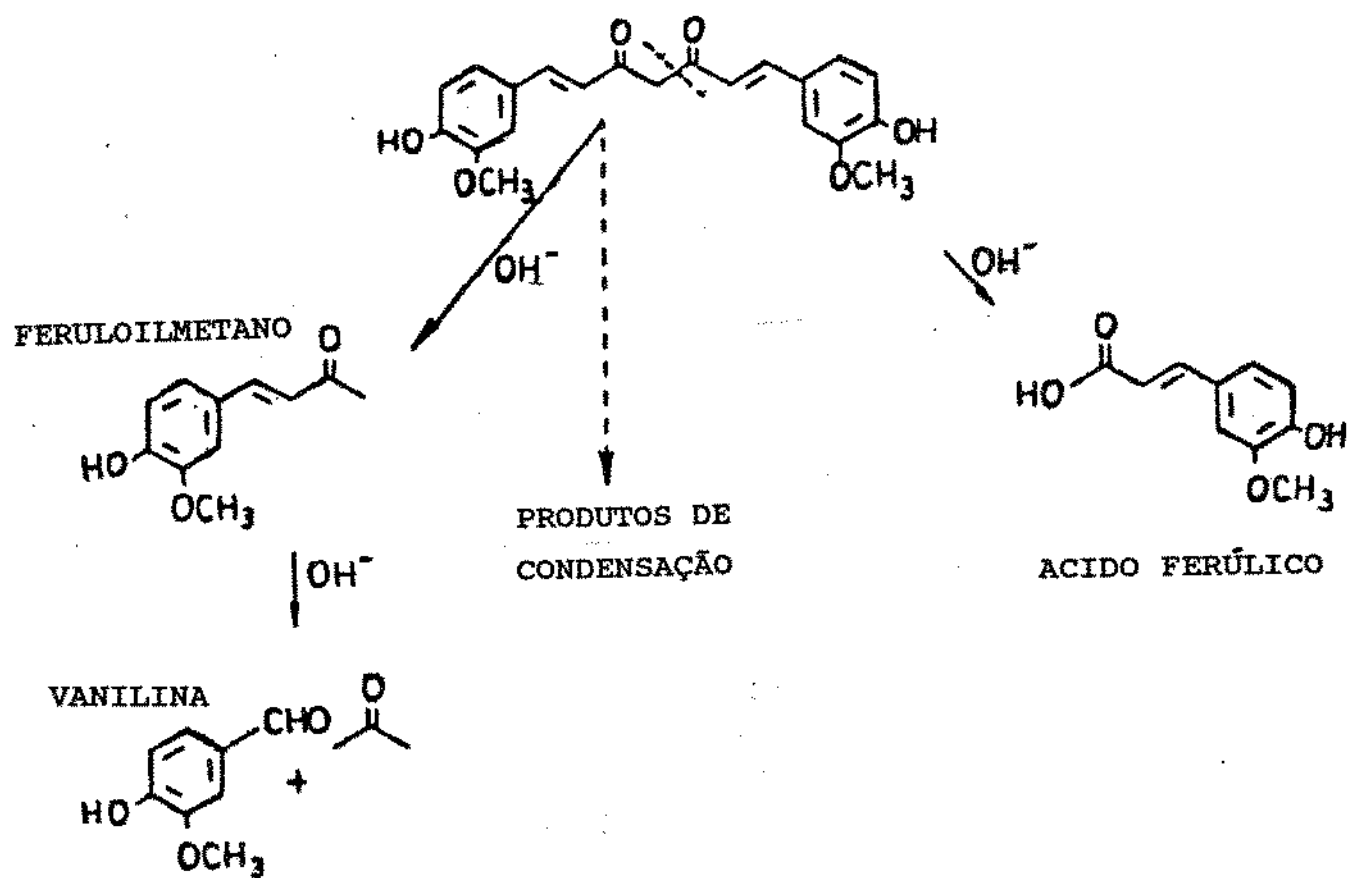


Figura 4 - Degradação alcalina da curcumina.

Fonte: TONNESEN & KARLSEN (1985a).

Segundo TONNESEN & KARLSEN (1985a) esses produtos não explicam a cor amarela amarronzada observada quando a curcumina é decomposta em pH maior que 7. Estudos por TLC de soluções de curcumina totalmente decompostas mostram 8 a 17 manchas, dependendo do tempo e pH da reação. As análises por HPLC, realizadas nas soluções alcalinas de curcumina, mostram que há formação de compostos mais complexos que os citados na literatura (ácido ferúlico, feruloilmetano, ácido vanílico, vanilina). Esses compostos, provavelmente produtos de condensação do feruloilmetano, são formados rapidamente, têm coloração amarela a amarela amarronzada e podem causar erro na determinação quantitativa de curcumina por espectrofotometria.

ABREU *et alii* (1992) estudaram a influência da atividade de água, da luz e/ou oxigênio na estabilidade da curcumina em sistema modelo a 21°C. O sistema modelo constituído de curcumina padrão impregnada em celulose microcristalina (1% p/p) foi submetido a atividades de água de 0,33; 0,57; 0,75; 0,86 e 0,97. Uma vez atingido o equilíbrio, as amostras foram submetidas a diferentes tratamentos: nitrogênio/escuro, nitrogênio/luz, ar/escuro e ar/luz. Os autores concluíram que, em todas as condições a reação seguiu cinética de primeira ordem. O armazenamento em atividade de água que mais favoreceu a degradação da curcumina foi de 0,97, seguida de 0,33. O armazenamento em atividades de água de 0,75 e 0,86 foram os de maior estabilidade. Em relação aos tratamentos, a luz foi um fator mais agressivo à curcumina do que a presença de oxigênio.

PRICE & BUESCHER (1992) estudaram o efeito da luz e álcali sobre os três curcuminóides, curcumina, desmetoxi-curcumina e bis-desmetoxi-curcumina. A quantificação foi realizada por HPLC. Para estudar o efeito da luz, oleoresina de cúrcuma foi emulsificada em salmoura acidificada em concentrações de $1,7 \times 10^{-4}M$ para curcumina, $7,9 \times 10^{-5}M$ para desmetoxi-curcumina e $9,6 \times 10^{-5}M$ para bis-desmetoxi-curcumina. Solução de curcumina purificada, em metanol, foi preparada com concentrações de $2,6 \times 10^{-4}M$. As amostras foram submetidas à atmosfera de nitrogênio e ar e expostas à luz (1450 lux).

Soluções de oleoresina de cúrcuma a 0,1% contendo 8,5% de curcumina e solução de curcumina pura ($3,0 \times 10^{-4}M$) em metanol, receberam adição de solução-tampão (fosfato, borato ou carbonato) numa faixa de pH 7,48 a 13,50 e foram comparadas com a degradação da curcumina em solução de salmoura, adicionada de soluções de NaOH com diferentes molaridades. Os autores concluíram que todas as reações de degradação seguiram cinética de primeira ordem.

Os três curcuminóides, presentes na oleoresina de cúrcuma emulsionada em solução de salmoura, apresentaram pequena diferença entre si na taxa de degradação quando expostos à luz. A presença de oxigênio teve pouca influência na degradação em relação à atmosfera de nitrogênio. Curcumina purificada teve maior estabilidade à luz, que os curcuminóides na solução de oleoresina em salmoura acidificada. A presença de oxigênio causou

aumento considerável na taxa de decomposição, em relação à atmosfera de nitrogênio, para a curcumina purificada.

Os autores propuseram um mecanismo fotoquímico para a decomposição da curcumina. A reação ocorre quando radicais livres são aceitos no sistema conjugado de moléculas de curcumina, ligações simples carbono-carbono são quebradas e diferentes produtos de degradação são formados, conforme mostrado na Figura 5.

Em relação à degradação alcalina, tanto as soluções de oleoresina de cúrcuma como a solução de curcumina purificada apresentaram um máximo de instabilidade entre pH 9 e pH 11. A degradação foi similar em pH 13-14 e em pH 8,5-9,0.

A estabilidade dos pigmentos, em salmoura adicionada de NaOH, foi bis-desmetoxi-curcumina > desmetoxi-curcumina > curcumina. As taxas de decomposição de curcumina foram independentes da força iônica do sistema, quando excesso de íons OH estava presente (PRICE & BUESCHER, 1992).

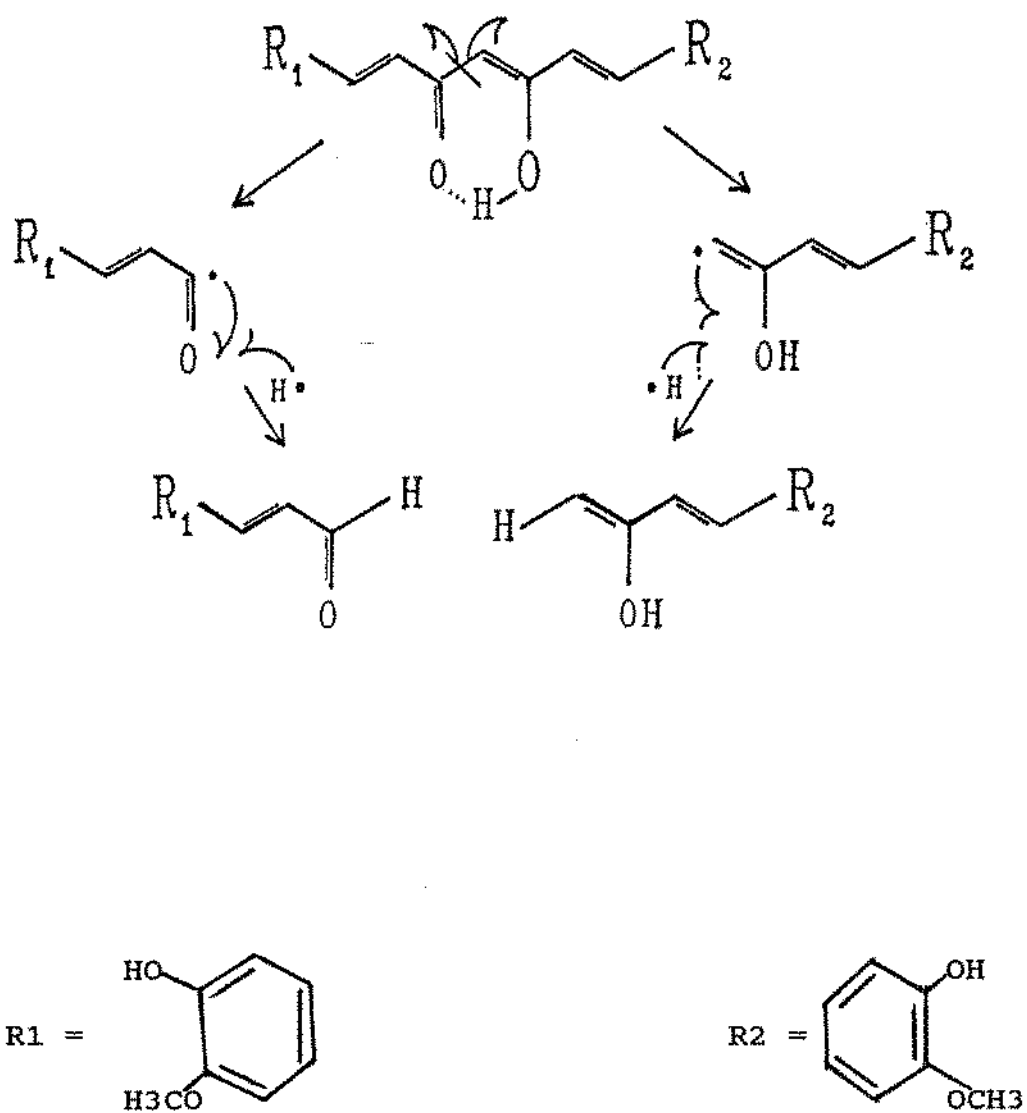


Figura 5- Degradação fotoquímica da curcumina.

Fonte: PRICE & BUESCHER (1992).

2.9 - PRODUTOS DE CÚRCUMA E APLICAÇÕES

Três produtos básicos de cúrcuma são comercialmente disponíveis:

- 1) cúrcuma em pó: raízes secas e moídas de cúrcuma contendo cor e aroma
- 2) oleoresina de cúrcuma: obtida a partir da cúrcuma em pó por extração com solventes, com rendimento de cerca de 12%. É um produto altamente viscoso, marrom alaranjado, contendo 30-40% de curcumina, 15-20% de óleo volátil, apresenta aroma característico de cúrcuma, fresco e pungente com sabor residual amargo. Diluída em níveis de uso, obtém-se uma cor amarela brilhante
- 3) extrato de curcumina purificado: corante sem aroma e sabor residual, concentrado após extração com diferentes solventes a partir da cúrcuma em pó (FREUND et alii, 1988 e GOVINDARAJAN, 1980).

A cúrcuma em pó é um constituinte indispensável ao "curry" indiano, também utilizado em pasta de mostarda e em condimentos. Nessas aplicações o aroma é desejável (GOVINDARAJAN, 1980).

A oleoresina de cúrcuma é largamente utilizada em pickles, maionese, mostarda, revestimentos de filés de peixe congelado, produtos cárneos, massas alimentícias, bebidas não alcoólicas, gelatinas, manteiga, queijos, etc. A função é predominantemente

de colorir o produto (ABEA, 1984 e FPCNAS, 1965). Em alguns casos como bebidas, gelatina, queijo, manteiga, sorvetes e produtos de confeitaria o aroma da cúrcuma é indesejável, sendo preferível utilizar a curcumina purificada (PEROTTI, 1975).

ANDRES (1981) apresenta a aplicação da cúrcuma como possível substituto da tartrazina, em níveis de 0,002 a 0,1%. Cúrcuma também é usada em combinação com páprica em muitos queijos processados e em produtos à base de gordura. Uma composição contendo mistura de oleoresina de cúrcuma (0,006 - 3% em peso) em oleoresina de páprica (10 - 100% em peso), para colorir margarina, é apresentada em patente americana de 1976 (USA Pat. 3.940.504, citada por FRANCIS, 1986). FREUND (1988), descreve alguns produtos obtidos de cúrcuma que são utilizados industrialmente para colorir alimentos.

Na EUA Pat. 4.368.208 (1983) é descrita a preparação de um complexo de curcumina e gelatina solúvel em água, onde curcumina e gelatina são misturadas numa solução de água e ácido acético e submetidas a aquecimento (80-85°C). O complexo contém 15% de curcumina em peso e pode ser usado em diversos alimentos na forma líquida ou seca. Na EUA Pat. 4.163.803 (1978), glicina é adicionada à curcumina para reduzir seu sabor amargo. Assim, a mistura pode ser utilizada em diversos alimentos e bebidas.

As propriedades funcionais desejáveis, nas preparações com curcumina, são:

- a) retenção de cor sem desenvolvimento de sabor residual durante estocagem e uso
- b) tamanho de partículas finas na preparação de "curry" e pasta de mostarda
- c) dispersibilidade e emulsificação da oleoresina e curcumina na preparação de pickles, maionese, queijos, etc (GOVINDARAJAN, 1980).

A curcumina é insolúvel em água e, como muitos sistemas de alimentos contem significativa quantidade de água, o pigmento não os colore sem algum tipo de emulsificante. Para uso comercial a oleoresina de cúrcuma é misturada com um solubilizante como propileno glicol, polisorbato ou óleo vegetal, para se obter um produto homogêneo e fluido (GOVINDARAJAN, 1980).

Na EUA Pat. 4.138.212 (1979) descreve-se a produção de uma solução de curcumina solúvel em água, por lavagem dos rizomas com NaCl ou KOH 33%, extração com uma solução de sabão (1 parte de KOH, 2,25 partes de óleo e 1,75 partes de água), a 60°C e pH 7. A solução aquosa foi também tratada com ácido até precipitação dos pigmentos, que separados por filtração, renderam uma pasta amarela que pode ser usada diretamente como corante em alimentos gordurosos, como margarina e óleos vegetais.

Oleoresina solubilizada pode ser encapsulada por "spray-drying", para uso em sopas molhos e produtos cárneos, conforme sugere ALEMANHA Pat. 2.348.004 (1974).

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - MATERIAL UTILIZADO

Rizomas secos de cúrcuma (*Curcuma longa* L.), provenientes da região de Goiás e adquiridos em São Paulo, foram moídos em moinho de martelo marca TIGRE, modelo CV-2 e passados por peneira de 40 mesh. O pó obtido foi armazenado ao abrigo da luz, a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, para uso durante a execução do trabalho. Uma remessa posterior de rizomas secos de cúrcuma provenientes da mesma região foi ainda utilizada.

Todos os solventes utilizados foram da marca MERCK ou purificados no laboratório por destilação a vácuo. O etanol utilizado nas leituras de absorbância foi álcool 96%GL comercial.

3.2 - CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL

3.2.1 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CURCUMINA NA CÚRCUMA EM PÓ

A quantificação de curcumina nos rizomas de cúrcuma foi baseada na Lei de Beer, de acordo com a ASTA (American Spice Trade Association), descrito por TAKAHASHI (1987). As leituras de absorbância foram feitas no comprimento de onda de máxima absorção de 425 nm. O valor de absortividade usado foi $E_{1\%}^{1\text{cm}} =$

1607. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro BECKMAN, modelo DU-70, usando etanol como branco. Os resultados foram expressos em porcentagem de curcumina na cúrcuma em pó.

3.2.2 - DETERMINAÇÃO DA UMIDADE

Foi utilizado o método descrito por JACOBS (1958). O método é indicado para amostras com pequenos teores de água, especialmente temperos, e é baseado na destilação da água da amostra com solventes imiscíveis em água (tolueno, xilol, heptano). Os resultados foram expressos em porcentagem de umidade.

3.3 - EXTRAÇÃO DA OLEORESINA DE CÚRCUMA

Todas as extrações foram realizadas em duplicata. Foi analisado o teor de curcumina na oleoresina e calculados o rendimento de extração e a recuperação de curcumina. Os resultados foram expressos em porcentagem. A porcentagem de recuperação de curcumina, por extração, foi calculada com base no teor inicial de curcumina presente na cúrcuma em pó.

As amostras de oleoresina de cúrcuma foram estocadas a $7^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ao abrigo da luz, para uso durante as etapas posteriores do trabalho.

3.3.1- DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CURCUMINA NA OLEORESINA DE CÚRCUMA

Foi utilizado o método de acordo com as especificações da EOA (Essential Oil Association), descrito por TAKAHASHI (1987).

A quantificação de curcumina nas amostras de oleoresina de cúrcuma foi baseada na Lei de Beer. As leituras de absorbância foram realizadas a 425 nm em espectrofotômetro BECKMAN, modelo DU-70, usando etanol como branco. O valor de absortividade utilizado foi $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1607$. Os resultados foram expressos em porcentagem de curcumina na oleoresina de cúrcuma.

3.3.2 - OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE OLEORESINA DE CÚRCUMA

3.3.2.1 - RELAÇÃO CÚRCUMA EM PÓ:SOLVENTE

A determinação da proporção ótima entre cúrcuma em pó e solvente (peso:volume) foi realizada em função da utilização de acetona como solvente de extração. A escolha de acetona foi baseada nas observações de RAJARAMAN et alii (1981) e KRISHNAMURTHY et alii (1976). O tempo de extração foi inicialmente fixado em duas horas, posteriormente foi feito um estudo de otimização do tempo de extração, utilizando acetona como solvente (item 3.3.2.4).

Utilizaram-se para a extração 50 gramas de cúrcuma em pó peneirado em peneira de 40 mesh e 100 mL de acetona (proporção 1:2). A mistura foi colocada em balões de boca esmerilhada, acoplados a um condensador e mantidos em temperatura de refluxo

por 2 horas. O material foi filtrado em papel de filtro e a acetona removida por destilação à vácuo.

Similarmente foram realizadas extrações nas proporções 1:4 (50g de cúrcuma em pó:200mL de acetona), 1:6 (50g de cúrcuma em pó:300mL de acetona) e 1:8 (50g de cúrcuma em pó:400mL de acetona).

3.3.2.2 - EXTRAÇÕES SUCESSIVAS

Dos resíduos das extrações 1:2 e 1:4, do item anterior, foram realizadas novas extrações com tempo de extração de 2 horas, usando acetona como solvente. As extrações sucessivas foram realizadas nas mesmas proporções que as extrações iniciais e o método foi o mesmo utilizado no item 3.3.2.1.

3.3.2.3 - EXTRAÇÃO À FRIO

A proporção ótima de cúrcuma em pó:acetona foi considerada a proporção 1:6. Esta escolha teve como base a recuperação de curcumina e será discutida no próximo capítulo.

Utilizando-se acetona como solvente de extração na proporção 1:6, 50 g de cúrcuma em pó e 300 mL de acetona foram mantidos sob agitação por 2 horas, à temperatura ambiente, em agitador FISATOM modelo 713, 2000 rpm. O material foi filtrado e o solvente removido por destilação a vácuo.

3.3.2.4 - TEMPO DE EXTRAÇÃO

Foram realizadas extrações nos tempos de 30, 60, 90, 120, 150, 180 e 240 minutos, utilizando acetona como solvente. A proporção cúrcuma em pó:solvente foi de 1:6. O método de extração foi similar ao do item 3.3.2.1.

3.3.2.5 - AVALIAÇÃO DE DIFERENTES SOLVENTES

Além de acetona, a eficiência de extração de seis solventes foi avaliada. Os solventes foram selecionados com base em seus respectivos índices de polaridade. O tempo de extração utilizado foi de 90 minutos e a proporção cúrcuma em pó:solvente foi de 1:6.

Tabela 1 - Propriedades dos solventes de extração.

Solvente	Índice de polaridade	Temperatura de
		ebulição (°C)
Hexano	0,0	66,0 - 71,0
Éter de petróleo	2,0	30,0 - 60,0
Acetato de etila	4,3	77,1
Isopropanol	4,3	82,3
Etanol	5,2	78,4
Acetona	5,4	56,1
Água	9,0	

Fonte: Millipore Indústria e Comércio - Divisão Waters.

3.3.3 - IDENTIFICAÇÃO DO PIGMENTO

A curcumina e seus dois derivados desmetoxilados: a desmetoxi-curcumina e a bis-desmetoxi-curcumina, presentes nas amostras de oleoresina obtidas nos itens anteriores, foram comparadas com cristais de curcumina de alta pureza marca RIEDEL - DE - HAEN, código 33189.

Soluções etanólicas das amostras e do padrão (0,01g/mL de etanol) foram cromatografadas em placa de sílica gel 60 G. O cromatograma foi desenvolvido com benzeno-metanol, 80:6 (v/v), conforme KRISHNAMURTHY *et alli* (1976).

Após o desenvolvimento, os solventes foram evaporados à temperatura ambiente e a placa foi pulverizada com uma solução de vanilina-ácido sulfúrico concentrado 5:95 (p/v), a fim de que as manchas características dos óleos fixos e voláteis fossem reconhecidas, conforme RAGHUVeer & GOVINDARAJAN (1979).

Foram também obtidos os espectros UV-visível de uma solução de oleoresina de cúrcuma e de uma solução de padrão de curcumina em etanol e em acetona.

3.4 - PURIFICAÇÃO DE OLEORESINA DE CÚRCUMA

Com o subsídio das informações encontradas na literatura, o processo de purificação da oleoresina de cúrcuma foi baseado em

extrações sucessivas com diferentes solventes e em métodos de cristalização da curcumina.

3.4.1. PURIFICAÇÃO POR EXTRAÇÃO

Os métodos de extração utilizados foram baseados nos métodos de SASTRI (citado por VERGHESE, 1984); nos métodos apresentados na EUA Pat.3.340.250.(1967); em patente alemã de 1938 (Ger.Pat. 658.958, citado por VERGHESE, 1984); na ALEMANHA Pat. 2.924.345 (1981) e nas observações de VERGHESE (1984).

As extrações foram realizadas em duas fases, a primeira, baseada na extração dos princípios oleosos da cúrcuma, responsáveis pelo aroma e indesejáveis na maioria das aplicações, e posterior extração da matéria corante com solventes de maior polaridade, conforme apresentado na Tabela 2. Na segunda fase, a oleoresina foi obtida primeiramente para depois sofrer extrações visando a retirada dos princípios oleosos (Tabela 3).

Outros ensaios de extração foram efetuados, onde se estudou a maceração da cúrcuma em pó com água, visando a retirada do amido a fim de melhorar a extractibilidade do pigmento e variações de pH visando saponificação da gorduras. Para esses estudos a cúrcuma em pó sofreu os seguintes pré-tratamentos:

Pré-tratamento A - adição de água e KOH 1N, maceração por 2 horas, adição de HCl 0,1N até coloração amarela, maceração

por 24 horas, filtração e secagem à vácuo (20 pol Hg) por 4 horas a 55°C.

Pré-tratamento B - adição de água, maceração por 24 horas, filtração e secagem a vácuo (20 pol Hg) por 4 horas a 55°C.

Tratamento C - adição de água, maceração por 24 horas, filtração, adição de hexano e maceração por 3 horas.

A extrações realizadas a partir desses pré-tratamentos são mostrados na Tabela 4.

Tabela 2 - Condições de extração na retirada dos princípios oleosos da cúrcuma em pó.

Tratamento	Solvente de extração	Proporção de cúrcuma em pó e solvente	Temperatura de extração (°C ± 2°C)	Tempo de extração (min)
1	hexano	1:6	68	120
	acetona	1:6	57	90
2	hexano	1:6	68	120
	acetona a frio	1:6	25	90
3	hexano	1:6	68	120
	éter de petróleo	1:6	50	90
	acetona	1:6	57	90
4	éter de petróleo	1:6	50	120
	hexano	1:6	68	90
	acetona	1:6	57	90
5	éter de petróleo	1:6	50	120
	acetona	1:6	57	90

Tabela 2 - Continuação.

Tratamento	Solvente de extração	Proporção cúrcuma em pó e solvente	Temperatura de extração (°C ± 2°C)	Tempo de extração (min)
6	éter de petróleo	1:4	50	120
	hexano	1:4	68	90
	acetona:ácido			
	acético (7:3)	1:6	-	90
7	éter de petróleo	1:4	50	120
	hexano	1:4	68	90
	acetona	1:6	58	90
8	éter de petróleo	1:4	50	120
	hexano	1:4	68	90
	acetona	1:6	58	90
	Lavagem com éter			
	de petróleo	-	-	-
9	éter de petróleo	1:5	50	120
	hexano	1:5	68	120
	acetona	1:6	58	90

Tabela 2 - Continuação.

Tratamento	Solvente de extração	Proporção cúrcuma em pó e solvente	Temperatura de extração (°C ± 2°C)	Tempo de extração (min)
10	éter de petróleo	1:5	50	120
	hexano	1:5	68	120
	acetona	1:6	58	90
	lavagem com éter			
	de petróleo	-	-	-

Tabela 3 - Condições de extração na retirada dos princípios oleosos da oleoresina.

Tratamento	Solvente de extração	Proporção cúrcuma em pó e solvente	Temperatura de extração (°C ± 2°C)	Tempo de extração (min)
11	acetona	1:6	57	90
	hexano	1:2	68	60
	éter de petróleo	1:2	50	60
12	acetona	1:6	57	90
	adição de água			
	gelada	-	-	-
	hexano	1:2	68	90
13	acetona	1:6	57	90
	adição de água			
	gelada	-	-	-
	éter de petróleo	1:2	50	60
14	acetona	1:6	57	90
	adição de água			
	gelada	-	-	-
	Secagem a 37°C			
	por 24 h	-	-	-

Tabela 4 - Condições de extração de oleoresina de cúrcuma, a partir de diversos pré-tratamentos.

Tratamento	Pré-tra- tamento	Solvente de extração	Proporção material: solvente	Tempera- tura de extração (°C ± 2)	Tempo de extração (min)
15	A	hexano	1:6	68	90
		acetona	1:6	57	90
		lavagem com éter de pe- tróleo	-	-	-
16	B	éter de pe- tróleo	1:6	50	90
		acetona	1:6	57	90
		maceração com hexano por 48 horas.	-	25	-
17	C	acetona	1:6	57	90
		lavagem com éter de pe- tróleo	-	-	-

3.4.2 - PURIFICAÇÃO POR CRISTALIZAÇÃO

As amostras de oleoresina de cúrcuma obtidas nos itens anteriores, foram submetidas a diversos métodos de purificação por cristalização.

Anteriormente foi realizada uma avaliação quantitativa dos parâmetros de cristalização, quais sejam: tipo de solvente, proporção oleoresina-solvente (p/v) e temperatura de cristalização. Os solventes utilizados foram: etanol, isopropanol, acetona, ácido acético, etanol-ácido acético (1:1), nas proporções oleoresina-solvente de 1:1, 1:2 e 1:3.

Segundo GOVINDARAJAN (1980), a curcumina cristaliza-se em etanol e ácido acético. A escolha de isopropanol foi baseada nas observações da EUA Pat.4.368.208 (1983). As temperaturas de cristalização testadas foram: temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), $7^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $-8^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. As condições de cristalização da curcumina estão resumidas na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros de cristalização de curcumina.

Ensaio	Solvente	Proporção óleo- resina:solvente (p/v)	Temperatura de cristalização (°C ± 2°C)
1	acetona	1:1	-8,7 e 25
2	acetona	1:2	-8,7 e 25
3	acetona	1:3	-8,7 e 25
4	etanol	1:1	-8,7 e 25
5	etanol	1:2	-8,7 e 25
6	etanol	1:3	-8,7 e 25
7	etanol	1:4	-8,7 e 25
8	isopropanol	1:1	-8,7 e 25
9	isopropanol	1:2	-8,7 e 25
10	isopropanol	1:3	-8,7 e 25
11	ácido acético	1:1	-8,7 e 25
12	ácido acético	1:2	-8,7 e 25
13	ácido acético	1:3	-8,7 e 25
14	etanol:ácido acético	1:1	-8,7 e 25
15	etanol:ácido acético	1:2	-8,7 e 25
16	etanol:ácido acético	1:3	-8,7 e 25

O melhor solvente para a cristalização da curcumina foi etanol. A partir do uso de etanol como solvente procurou-se encontrar fatores que intensificassem a precipitação da curcumina. Esses foram selecionados com base em informações de literatura e foram utilizados primeiramente na forma de tentativa e erro com objetivo de se obter teores de curcumina de interesse comercial, ou seja, acima de 70%. A partir dos métodos que propiciaram melhores resultados, estudou-se o rendimento do processo de cristalização. Alguns métodos de cristalização testados foram:

MÉTODO A: Cristalização em etanol + água, baseado na baixa solubilidade do pigmento em água.

MÉTODO B: Cristalização em etanol, adição de NaOH até pH 8-10, a fim de provocar saponificação violenta das gorduras, redução do pH com HCl para formar sais insolúveis em água, uma vez que a solubilidade da curcumina em pH baixo é pequena (VERGHESE, 1984).

MÉTODO C: Cristalização em etanol, redução do pH com HCl.

MÉTODO D: Cristalização em etanol, retirada do sobrenadante e lavagens sucessivas dos cristais até um teor de pureza desejável.

MÉTODO E: Cristalização em etanol e lavagem dos cristais com hexano para retirada de princípios oleosos remanescentes.

3.5 - ESTABILIDADE DA CURCUMINA

Foram preparadas soluções aquosas de oleoresina de cúrcuma (item 3.3) e cristais de curcumina (item 3.4.2), utilizando 4% de polisorbato 80 ou polisorbato 20 como solubilizante.

A variação da absorbância, em função do tempo de reação, foi o parâmetro usado para medir a estabilidade da curcumina na forma de oleoresina de cúrcuma e na forma purificada. A concentração de curcumina nas soluções foi calculada de modo a ser suficiente para a obtenção de leituras de absorbância inicial entre 0,7500 e 0,9000.

A partir da variação da absorbância das soluções quantificou-se a variação, em função do tempo de reação, do teor de curcumina na oleoresina de cúrcuma e nos cristais de curcumina. As soluções foram diluídas 250 vezes em etanol e a absorbância lida a 425 nm, utilizando espectrofotômetro BECKMAN, modelo DU-70. Os cálculos foram feitos utilizando $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1607$. Os resultados foram expressos em porcentagem de curcumina na oleoresina de cúrcuma e porcentagem de curcumina em cristais de curcumina.

A determinação dos espectros de absorção das amostras foi feita no intervalo de 300 a 600 nm.

3.5.1. EFEITO DA TEMPERATURA

Os testes foram realizados a 50, 75, 100, 125°C $\pm$ 2°C. As temperaturas de 50, 75 e 100°C foram obtidas em banho de água termostatzado marca UNITEMP-FANEM modelo 112/2. A temperatura de 125°C foi obtida em banho de óleo.

Tubos de 10 mL de capacidade, com tampa rosqueada, receberam adição de 5mL de solução aquosa com concentração conhecida, foram fechados fortemente para evitar evaporação e perda de líquido e vedados com teflon.

Após a leitura da absorbância inicial (tempo 0), 12 tubos contendo solução de oleoresina de cúrcuma foram colocados em banho a 50°C $\pm$ 2°C e protegidos da luz.

Para se determinar o tempo necessário para que a temperatura se equilibrasse no interior do tubo, um termômetro foi acoplado dentro do mesmo. Verificou-se que o tempo de equilíbrio foi de 5 minutos, após o que iniciou-se a contagem dos tempos de reação.

Os tubos foram retirados do banho, em duplicata, nos tempos de 5, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos e colocados em banho

de gelo. Foram feitas as leituras de absorbância e a determinação dos espectros de absorção. O mesmo procedimento foi repetido nas temperaturas de 75; 100 e 125°C. Todos os procedimentos descritos foram repetidos para soluções de cristais de curcumina. As Tabelas 6 e 7 resumem as condições experimentais.

Tabela 6- Concentração das soluções usadas no estudo do efeito da temperatura na estabilidade da oleoresina de cúrcuma e curcumina.

Amostra	Teor de curcumina (%)	Massa OR ou C (g)	Volume de água destilada (mL)	Conc. de curcumi-na na solução (mg/mL)
OR	33,29	0,2964	70	1,41
OR	33,40	0,3033	70	1,45
OR	33,52	0,2997	70	1,44
OR	33,32	0,3059	70	1,46
C	77,19	0,1208	70	1,33
C	79,72	0,1203	70	1,37
C	75,47	0,1261	70	1,36
C	76,37	0,1247	70	1,36

OR: Oleoresina de cúrcuma

C: Cristais de curcumina

Tabela 7 - Condições experimentais no estudo de estabilidade em relação à temperatura.

Temperatura (°C)	Solução	Concentração de curcumina na solução (mg/mL)
50	OR	1,41
75	OR	1,45
100	OR	1,44
125	OR	1,46
50	C	1,33
75	C	1,37
100	C	1,36
125	C	1,36

OR: oleoresina de cúrcuma

C: Cristais de curcumina

3.5.2 - EFEITO DO pH

Soluções aquosas de oleoresina de cúrcuma e cristais de curcumina foram diluídas com solução tampão fosfato dissódico/ácido cítrico numa faixa de pH de 2,4 a 7,7. As soluções receberam adição de 0,01% de solução de sorbato de potássio a 5% para evitar crescimento de fungos.

Tubos de 10 mL de capacidade, com tampa rosqueada receberam adição de 5 mL de solução aquosa com concentração conhecida, foram fechados fortemente para evitar evaporação e perda de líquido e vedados com teflon.

Na preparação das soluções de oleoresina de cúrcuma, 6 mL da solução OR 1 (Tabela 8) foram misturadas com 24 mL de solução tampão até pH 2,48. O mesmo procedimento foi realizado na obtenção de soluções com pH 3,30; 4,20; 5,15; 6,09; 6,99 e 7,66. A concentração final das soluções foi de 1,36 mg/mL. Após repouso de uma hora foram realizadas as leituras de absorbância das soluções (tempo 0). Quatorze tubos contendo soluções de oleoresina de cúrcuma, nos diversos pHs, foram estocadas a $7^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Foram retiradas amostras, em duplicata, para determinação do espectro de absorção e leitura de absorbância nos tempos de 24, 48 e 120 horas.

Na preparação das soluções de oleoresina de cúrcuma a serem estocadas a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 6 ml da solução OR 2 (Tabela 8)

foram misturadas com 24 mL de solução tampão até pH 2,44. O mesmo procedimento foi realizado na obtenção de soluções com pH 3,28; 4,27; 5,18; 6,07; 6,98 e 7,66. A concentração final de curcumina das soluções foi de 1,31 mg/mL. A partir daí, o procedimento descrito anteriormente para soluções de oleoresina estocados a 7°C foi repetido.

Na preparação das soluções de cristais de curcumina estocados a 7°C $\pm$ 1°C, 4 mL da solução C 1 (Tabela 8) foram misturadas com 16 mL de solução tampão até pH 2,47. O mesmo procedimento foi realizado na obtenção de soluções com pH 3,24; 4,23; 5,23; 6,18; 6,98 e 7,56. A concentração final das soluções foi de 1,34 mg/mL. Para as soluções de cristais de curcumina estocados a 37°C $\pm$ 1°C, os valores de pH e a concentração final das soluções foram os mesmos das soluções estocadas a 7°C.

O mesmo procedimento descrito para soluções de oleoresina estocadas a 7°C, foi repetido para as soluções de cristais de curcumina estocados a 7°C e 37°C. A Tabela 8 fornece a concentração das soluções-mãe, utilizadas nas diluições com solução tampão, descritas nesse item.

Tabela 8 - Concentração das soluções usadas no estudo do efeito do pH na estabilidade da oleoresina de cúrcuma e curcumina, antes da adição de solução-tampão.

Solução	Teor de curcumina (%)	Massa OR/C (g)	Vol. de água destilada (mL)	Conc. de curcumina (mg/mL)
OR 1	31,37	1,0827	50	6,79
OR 2	30,27	1,0819	50	6,55
C 1	79,71	0,2522	30	6,70
C 2	79,71	0,2522	30	6,70

OR : Oleoresina de cúrcuma

C: Cristal de curcumina

3.5.3 - EFEITO DA LUZ

Soluções aquosas de oleoresina de cúrcuma e cristais de curcumina receberam adição de solução tampão fosfato dissódico/ácido cítrico até atingirem pH 4. As soluções receberam 0,01% de solução de sorbato de potássio a 5% para evitar crescimento de fungos.

Após a leitura inicial da absorbância (tempo 0), as soluções foram distribuídas (5 mL) em tubos de ensaio de 20 mL com tampa rosqueada e vedados com teflon. Metade dos tubos foi submetido, antes do fechamento, a um fluxo de nitrogênio por 20 segundos para se obter uma atmosfera inerte. Do total de tubos, metade foi estocada no escuro e a outra metade exposta a uma lâmpada fluorescente de 15W, colocada a 30 cm dos tubos. A lâmpada forneceu luminosidade de 1200 lux, que segundo CREDER (1966), corresponde a um nível padrão de iluminação de exposição de destaque em lojas.

Os tubos permaneceram inclinados em relação à fonte de luz, tiveram suas posições trocadas em intervalos determinados e foram protegidos de qualquer outra fonte de luz.

Foram retiradas amostras, em duplicata, para determinação do espectro de absorção e leitura de absorbância nos tempos de 1, 2, 4, 7, 10, 15 e 30 dias. As Tabelas 9 e 10 resumem as condições experimentais.

Tabela 9 - Concentração das soluções usadas no estudo do efeito da luz na estabilidade da oleoresina de cúrcuma e curcumina.

Solução	Teor de curcumina (%)	Massa (OR ou C) (g)	Vol.de tampão (mL)	Vol. água destilada (mL)	Conc. de curcumina (mg/mL)
OR	31,38	0,6023	20	130	1,26
C	77,71	0,2355	35	115	1,22

OR: Oleoresina de cúrcuma

C: Cristais de curcumina

Tabela 10 - Condições experimentais no estudo de estabilidade em relação à luz.

Solução	Conc. de curcumina (mg/mL)	Temperatura (°C ± 2°C)	pH	Atmosfera	luz/escuro
OR	1,26	25	4,0	ar	escuro
OR	1,26	25	4,0	ar	luz
OR	1,26	25	4,0	nitrogênio	escuro
OR	1,26	25	4,0	nitrogênio	luz
C	1,22	25	4,0	ar	escuro
C	1,22	25	4,0	ar	luz
C	1,22	25	4,0	nitrogênio	escuro
C	1,22	25	4,0	nitrogênio	luz

OR: Oleoresina de cúrcuma

C: Cristais de curcumina

3.5.4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variações de concentração de curcumina em soluções de oleoresina de cúrcuma e cristais de curcumina, em função do tempo de reação, obtidas conforme apresentado nos itens 3.5.1, 3.5.2 e 3.5.3 foram submetidos à análise de variância.

Estudou-se a relação funcional entre o tempo de tratamento e o teor de curcumina e, sempre que possível, confrontaram-se os coeficientes angulares das retas de regressão linear pelo teste de Tukey, ao nível de erro de 5%.

3.5.5 - CÁLCULO DAS CONSTANTES DE VELOCIDADE DE REAÇÃO (K) E TEMPO DE MEIA VIDA ($t_{1/2}$)

A partir das variações de concentração de curcumina em oleoresina de cúrcuma e em cristais de curcumina, em função do tempo de reação, obtidas dos estudos apresentados nos itens 3.5.1, 3.5.2 e 3.5.3, foram calculados os valores das constantes de velocidade das reações (K), sempre que possível.

Os valores de K foram determinados utilizando-se a equação 1, para cinética de 1ª ordem, conforme TEIXEIRA NETO et alii (1991).

$$-\ln \frac{C}{C_0} = Kt \quad (\text{eq. 1})$$

Onde:

C = Concentração final de curcumina

C₀ = Concentração inicial de curcumina

t = Tempo de reação

Do gráfico $-\ln C$ em função do tempo de reação obtém-se uma reta cuja inclinação representa a constante da velocidade da reação. (ANEXOS 9 a 16 e 31 a 34).

Também foram calculados os tempos de meia vida ($t_{1/2}$) através da equação 2.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K} \quad (\text{eq. 2})$$

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - MATERIAL UTILIZADO

A Tabela 11 mostra os teores de curcumina e umidade nas amostras de cúrcuma em pó utilizadas neste trabalho.

MATHAI (1976) analisou 38 variedades de cúrcuma secas a 55 °C e moídas e encontrou teores de curcumina entre 2,5 a 8,1%. SAMPATHU (1988) trabalhou com amostras de cúrcuma, secas ao sol, com 12,88 % de umidade e 3,4 % de curcumina. Amostras secas em corrente de ar quente apresentaram 9,8 % de umidade e 3,19 % de curcumina. Segundo KRISHNAMURTHY *et alii* (1975), a variedade "Rapjuri", que representa 20,6% da produção total de cúrcuma na Índia, apresenta 3,3 a 3,9% de curcumina (base seca). GOVINDARAJAN (1980) citou variedades de cúrcuma que, depois de secas, apresentaram 7 % de umidade e 2,7 % de curcumina.

O teor de curcumina na variedade brasileira de cúrcuma, utilizada no presente trabalho, está em conformidade com os dados de literatura, podendo ser comparado às variedades indianas com maiores teores.

Tabela 11 - Teor de curcumina e umidade na cúrcuma em pó.

Amostra	Teor de curcumina (%)	Umidade (%)
Cúrcuma em pó (40 mesh)	5,48	9,50
Cúrcuma em pó (40 mesh)	5,31	9,75

4.2 - EXTRAÇÃO DE OLEORESINA DE CÚRCUMA

Estudos publicados sobre extração de oleoresina de cúrcuma, em laboratório, fornecem dados de rendimento e eficiência de extração de curcumina em relação a diferentes cultivares, tamanho da partícula da cúrcuma, tipo de solvente utilizado, extração a quente (Soxhlet) e a frio (percolação).

A escolha do solvente de extração é restrita aos solventes permitidos para uso em alimentos. Do ponto de vista de processamento, a escolha é ditada pela eficiência da extração dos componentes de interesse, pelo rendimento de oleoresina com propriedades desejáveis e pelo custo na eliminação do solvente.

Um dos solventes utilizados na extração de oleoresina de

temperos é o dicloroetileno por ser relativamente seletivo aos componentes aromáticos, imiscível em água e seguro contra explosões. Nos últimos anos, dúvidas foram levantadas quanto ao uso de solventes clorados em preparações alimentícias e seu uso tem diminuído. Hexano e heptano são bons solventes para a extração de óleos essenciais e gorduras mas não extraem os compostos de maior polaridade. Dióxido de carbono por sua alta volatibilidade e consequente necessidade de refrigeração, implica em alto custo sendo utilizado em casos mais limitados.

Etanol é um solvente inócuo e acetona apresenta problemas de inflamabilidade e alto custo de recuperação, exigindo refrigeração em função de seu baixo ponto de ebulição. Etanol e acetona são miscíveis em água, o que implica em que substâncias como carboidratos, resinas e gomas também possam ser extraídas, diluindo o produto. Acetato de etila é usado na obtenção de aromas de frutas, é mais inflamável que dicloroetileno e etanol e seu limite de inflamabilidade (% de volume no ar) é similar ao da acetona. É pouco miscível em água, com solubilidade de 7,4 g/mL a 25 °C (RAJARAMAN et alii, 1981).

Na extração de oleoresina de cúrcuma, por percolação a frio, os dados de literatura apontam uma pequena superioridade da acetona sobre os outros solventes (KRISHNAMURTHY et alii, 1976 e RAJARAMAN et alii, 1981).

Segundo GOVINDARAJAN (1980), o processo industrial utilizando acetona fornece altos rendimentos de oleoresina (10-12%), sem diminuição do teor de curcumina em relação aos teores obtidos por métodos de laboratório. O autor considera a acetona como o solvente mais apropriado para a extração de oleoresina de cúrcuma.

Pelas considerações acima, acetona foi o solvente de extração inicialmente escolhido no presente trabalho. Pela necessidade de se analisar a extração de oleoresina de cúrcuma em função de diferentes variáveis, o trabalho foi conduzido de forma a fixar determinados parâmetros (tamanho da partícula da cúrcuma e solvente de extração) e variar outros fatores (proporção cúrcuma em pó-solvente, métodos de extração e tempo de extração). Em função dos parâmetros fixados, foram obtidos parâmetros ótimos para um estudo comparativo da acetona com outros solventes.

4.2.1 - EXTRAÇÃO COM DIFERENTES PROPORÇÕES DE CÚRCUMA EM PÓ:SOLVENTE

Os resultados das extrações de oleoresina de cúrcuma em função de diferentes proporções de acetona estão descritos na Tabela 12.

Os resultados indicam um aumento considerável na recuperação de curcumina, quando a proporção de solvente foi aumentada de 1:2 para 1:4 e 1:6. Nessas proporções os dados

seguem um padrão linear, de acordo com a equação de regressão:

$$R = 1,2600 + 14,3937 S$$

$$\text{coeficiente de correlação } (r^2) = 0,9966$$

onde R = recuperação de curcumina e S = proporção de solvente

Tabela 12 - Extração de oleoresina de cúrcuma com acetona em diferentes proporções.

Proporção cúrcuma em pó-acetona (p/v)	Rendimento de extração (%)	Teor de curcumina na oleoresina (%)	Recuperação de curcumina (%)
1:2	5,15	30,96	29,09
1:4	10,55	31,57	60,78
1:6	14,20	33,45	86,68
1:8	15,40	32,13	90,29

Um pequeno aumento na recuperação de curcumina é observado quando a proporção passa de 1:6 para 1:8. Os dados foram submetidos à análise de variância e as proporções 1:6 e 1:8 diferiram significativamente ao nível de 5% de probabilidade, sendo de 2,10% a diferença mínima significativa do teste de Tukey. Entretanto, a proporção de 1:6 foi considerada mais

viável economicamente, uma vez que a diferença na recuperação de curcumina, entre extração na proporção de 1:6 e 1:8, não justifica o uso de maior quantidade de solvente.

4.2.2 - EXTRAÇÕES SUCESSIVAS

O resíduo da extração na proporção de 1:2, sofreu nova extração, também na proporção de 1:2 o que, em quantidade de solvente corresponderia a uma extração de 1:4. Da mesma forma, o resíduo da extração na proporção de 1:4 foi extraído novamente na proporção 1:4, correspondendo a uma proporção cúrcuma em pó-solvente de 1:8. Os resultados são apresentados na tabela 13.

Tabela 13 - Extrações sucessivas de oleoresina de cúrcuma com acetona.

Proporção cúrcuma em pó-acetona (p/v)	Proporção resíduo- acetona (p/v)	Rendimento de extração (%)	Teor de curcumina na oleoresina (%)	Recuperação de curcumina (%)
1:2	-	5,30	30,23	28,28
-	1:2	5,90	31,15	33,53
1:4	-	10,90	31,59	62,83
-	1:4	1,70	29,01	9,00

A recuperação de curcumina na extração 1:2 (28,28%) adicionada da recuperação de curcumina do resíduo (33,53%), equivale a uma recuperação da ordem de 61,81%, que é ligeiramente superior à extração 1:4 da Tabela 12. Para a extração 1:4 e seu resíduo, a recuperação de curcumina foi, respectivamente, 62,83% e 9,00% que, somados fornecem uma recuperação de 71,83%, inferior à extração 1:8 da Tabela 12.

Levando-se em consideração que, para a mesma quantidade de solvente, as extrações sucessivas consomem o dobro do tempo das extrações do item anterior, esse processo não se mostrou viável.

4.2.3 - EXTRAÇÃO A FRIO

Um processo realizado à temperatura ambiente obviamente apresenta vantagens do ponto de vista econômico. Com a finalidade de comparação com o processo de extração a quente, oleoresina foi extraída com acetona à temperatura ambiente. Os resultados estão apresentados na Tabela 14.

Comparando-se a recuperação de curcumina no processo a frio (40,57%) com a recuperação de curcumina obtida no processo a quente, realizado na mesma proporção de solvente e tempo de extração (86,68%), nota-se que a temperatura tem grande importância na extração dos princípios coloridos da cúrcuma.

Sob a ótica do processamento, extração a frio não se mostrou um processo de interesse pelo seu baixo rendimento e baixa recuperação de curcumina.

Tabela 14 - Extração de oleoresina de cúrcuma com acetona a $25 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, por 2 horas.

Proporção cúrcuma em pó- solvente (p/v)	Rendimento de extração (%)	Teor de curcumina na oleoresina (%)	Recuperação de curcumina (%)
1:6	8,00	27,79	40,57

4.2.4 - DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO

Os resultados deste estudo são apresentados na Tabela 15.

O comportamento das extrações nos diferentes tempos, visualizado na Figura 6, indica um aumento da recuperação de curcumina em função do tempo, atingindo um valor máximo com 90 minutos de extração. A partir daí, tempos de extração mais longos apresentam uma queda no teor de curcumina recuperada.

O mesmo comportamento foi observado em relação ao teor

de curcumina na oleoresina. Tempos de extração menores possivelmente não são suficientes para a extração dos princípios coloridos em quantidade apreciável, e tempos de extração mais longos podem ter algum efeito destrutivo sobre o pigmento. O tempo de 90 minutos pode ser considerado o de melhor desempenho na obtenção de oleoresina de cúrcuma, por extração a quente com acetona.

Tabela 15 - Extração de oleoresina de cúrcuma com acetona a 57°C $\pm$ 2 °C, em diferentes tempos de extração.

Tempo de extração (min)	Proporção cúrcuma em pó-acetona (p/v)	Rendimento de extração (%)	Teor de curcumina na oleoresina (%)	Recuperação de curcumina (%)
30	1:6	13,50	26,20	64,54
60	1:6	13,37	31,62	77,14
90	1:6	13,67	35,96	89,70
120	1:6	14,20	33,45	86,68
150	1:6	14,33	28,77	75,23
180	1:6	12,07	27,76	61,14
240	1:6	12,17	27,22	60,45

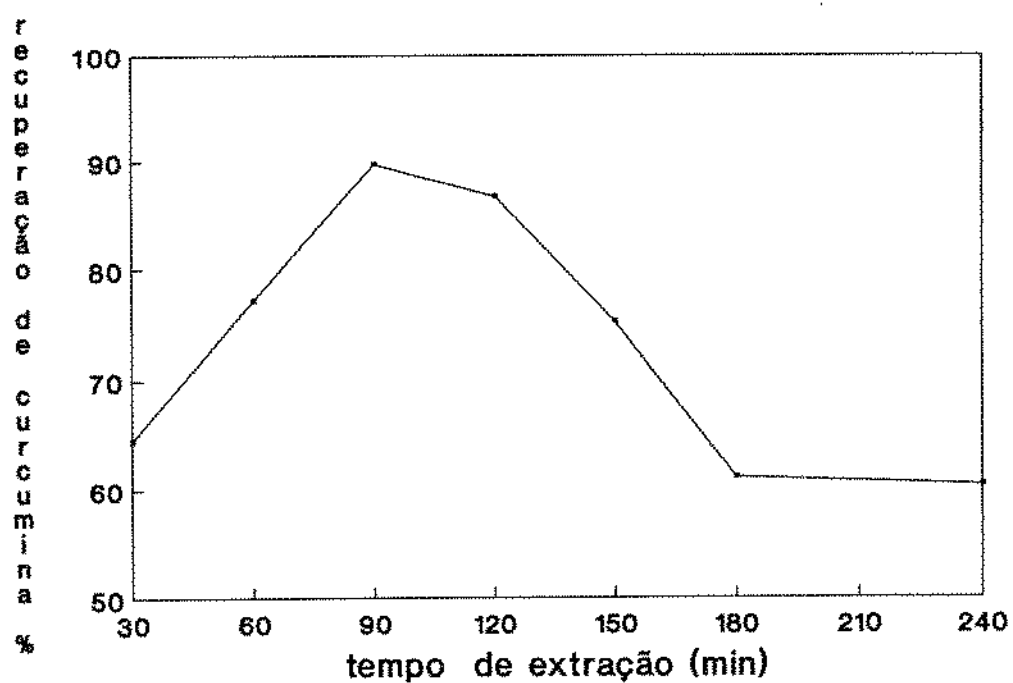


Figura 6 - Recuperação de curcumina em função do tempo de extração com acetona, à temperatura de $57^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.2.5 - EXTRAÇÃO COM DIFERENTES SOLVENTES

Algumas variáveis do método de extração com acetona foram otimizadas. São elas, proporção de cúrcuma em pó-solvente de 1:6 e extração à temperatura de refluxo do solvente por 90 minutos. Com estes parâmetros foi realizada uma comparação da acetona com outros solventes de extração. Os resultados são mostrados na Tabela 16.

Água, éter de petróleo e hexano não foram capazes de extrair curcumina. Etanol, apesar de fornecer o maior rendimento de extração, forneceu o menor teor de curcumina na oleoresina. A recuperação de curcumina foi similar à obtida com isopropanol. Acetato de etila forneceu o menor rendimento de extração, embora o teor de curcumina na oleoresina fosse alto. Acetona foi o melhor solvente de extração nas condições utilizadas, fornecendo uma recuperação de curcumina de 89,70%.

Na Tabela 17 estão resumidos os resultados de estudos sobre extração de oleoresina de cúrcuma por diferentes métodos descritos na literatura.

O presente trabalho obteve, para extrações com acetona realizadas em laboratório nas condições já descritas, valores de recuperação de curcumina similares aos maiores valores encontrados na literatura, tanto para extrações realizadas em laboratório como a nível de planta piloto. Os rendimentos de

extração com acetona do presente trabalho são, ainda, superiores aos dados de literatura referentes a processos industriais.

Tabela 16 - Extração de oleoresina de cúrcuma com diferentes solventes.

Solvente	Temperatura de extração (°C ± 2°C)	Rendimento de extração (%)	Teor de curcumina na oleoresina (%)	Recuperação de curcumina (%)
Água	100	-	-	-
Éter de petróleo	50	-	-	-
Hexano	68	-	-	-
Acetato de etila	77	11,00	33,72	67,69
Acetona	56	13,67	35,96	89,70
Etanol	79	14,67	29,15	78,03
Isopropanol	83	12,67	33,77	78,08

Tabela 17 - Extração de oleoresina de cúrcuma por diferentes métodos.

Solvente	Método de extração	Rendimento de extração (%)	Teor de curcumina na oleoresina (%)	Recuperação de curcumina (%)
Acetona ^(a)	percolação a frio	7,7	31,1	-
Acetato de etila ^(a)	"	7,2	31,8	-
Dicloro-etileno ^(a)	"	7,0	31,9	-
Etanol ^(b)	percolação a frio (1:12)	12,1	46,0	87,0
Acetona ^(b)	"	13,1	28,1	78,0
Dicloro-etileno ^(b)	"	9,2	47,9	68,8
Etanol ^(c)	CC	5,7	46,0	80,0
Acetona ^(c)	CC	5,9	45,7	81,7
Dicloro-etileno ^(c)	CC	5,7	42,2	72,9
Acetona ^(c)	Soxhlet por 4 horas	5,0	42,2	87,9
Etanol ^(d)	P3	6,5	-	-
Etanol ^(d)	E4	8,0	-	-
Acetona ^(e)	extração industrial	10-12	30-40	-

CC = percolação a frio em contra corrente (planta piloto)
P3 = percolação a 40-50 °C na proporção 1:3 (planta piloto)
E4 = extração a 60 °C na proporção 1:4 (planta piloto)

Fontes : (a) RAJARAMAN et alii (1981)
(b) GEORGE et alii (1981)
(c) KRISHNAMURTHY et alii (1976)
(d) KAPUR et alii (citado por GOVINDARAJAN, 1980)
(e) KALYANARAMAN (citado por GOVINDARAJAN, 1980)

4.2.6 - IDENTIFICAÇÃO DO PIGMENTO

Soluções etanólicas de oleoresina (0,01g/mL), com teores de curcumina de 28,06 % (OR1); 32,72 % (OR2); 36,44 % (OR3) e 36,72 % (OR4) e soluções de padrão de curcumina (0,01 g/mL), quando cromatografadas em placa de sílica gel, apresentaram três manchas distintas vistas à luz do dia, conforme mostrado na Figura 7.

A mancha A teve coloração amarelo-avermelhado e as manchas B e C tiveram coloração amarela, para todas as amostras; independente da concentração de curcumina, a mancha A foi maior que as demais. A mancha A corresponde à curcumina, principal pigmento da cúrcuma e as manchas B e C correspondem aos seus dois derivados desmetoxilados, a desmetoxi-curcumina e a bis-desmetoxi-curcumina (JANBEN & GOLE, 1984).

As manchas correspondentes aos óleos fixos e voláteis, presentes nas amostras de oleoresina, não são visíveis, mas podem ser vistas sob luz ultra violeta como manchas azuis. As manchas dos óleos fixos e voláteis também podem ser visualizadas por pulverização da placa com vanilina-ácido sulfúrico concentrado (5:95), conforme mostrado na Figura 8.

Após a pulverização com o revelador as manchas mostradas na Figura 7 adquiriram coloração rosa amarronzado. Manchas com Rfs mais altos, nas colorações rosa, azul e rosa-azulado foram

observadas nas amostras de oleoresina, o que não ocorreu com as amostras de padrão de curcumina. As manchas podem ser atribuídas aos componentes oleosos presentes na oleoresina.

RAGHUVVEER & GOVINDARAJAN (1979) cromatografaram extratos de *Curcuma longa* L. em placa de sílica gel. O cromatograma foi desenvolvido em hexano e pulverizado com vanilina-ácido sulfúrico concentrado (5:95), e apresentando duas manchas distintas de cor rosa, com Rf de 0,21 e 0,27, que podem ser devidas a hidrocarbonetos sesquiterpênicos. Manchas azuis com Rf 0,5 e 0,7 e uma mancha rosa-azulada com Rf 0,6 também foram visualizadas e podem ser atribuídas a ar-turmerona e turmerona.

O cromatograma mostrado na Figura 8 tem aplicação limitada em relação à identificação dos componentes oleosos da oleoresina, mas se presta à finalidade de avaliar o processo de purificação da curcumina, pela presença ou ausência das manchas características dos princípios oleosos.

Soluções de oleoresina de cúrcuma, obtidas no presente trabalho, e padrão de curcumina em etanol apresentam pico máximo de absorção na faixa de 422 nm a 425 nm (ANEXO 1). Soluções em acetona apresentam máxima absorção entre 416 e 418 nm (ANEXO 2).

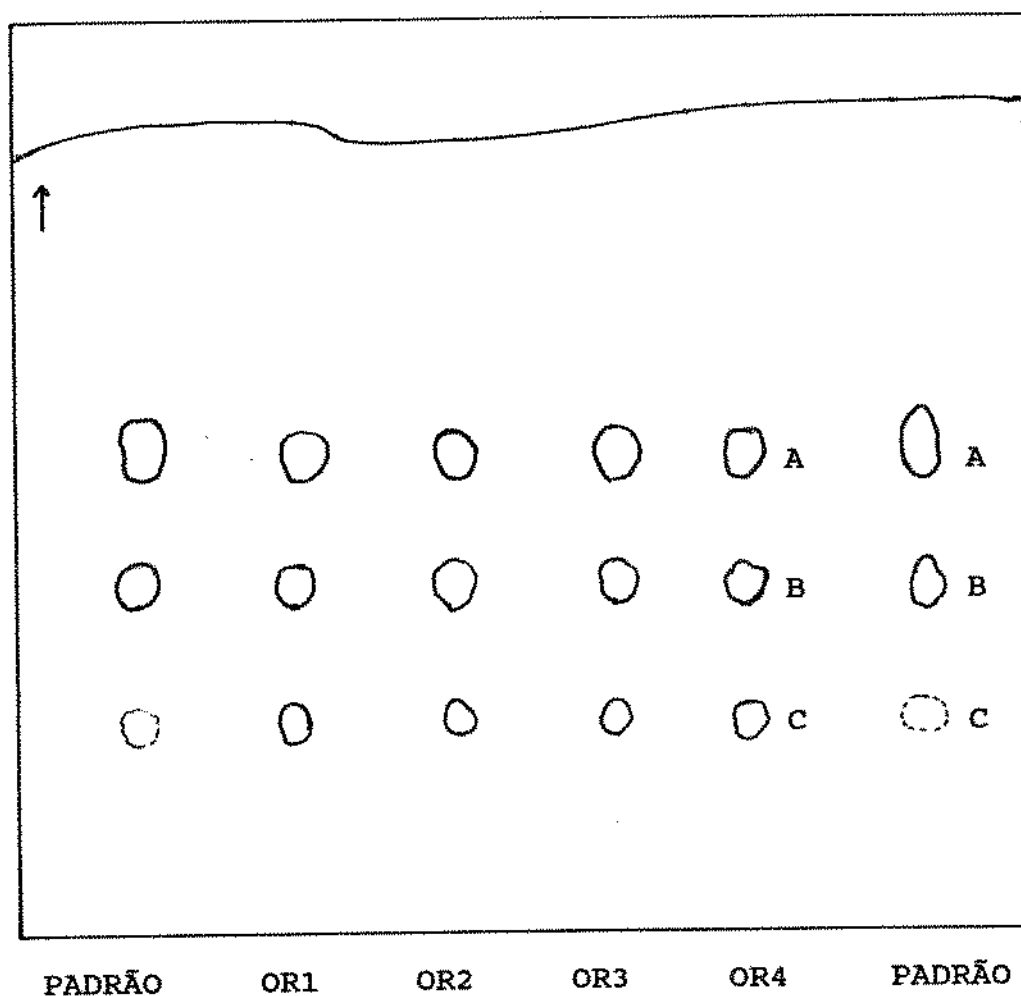


Figura 7 - Cromatograma de extratos etanólicos de oleoresina de cúrcuma e de curcumina eluídos com benzeno-metanol (80:6).

A - amarelo-avermelhado

B e C - amarelo

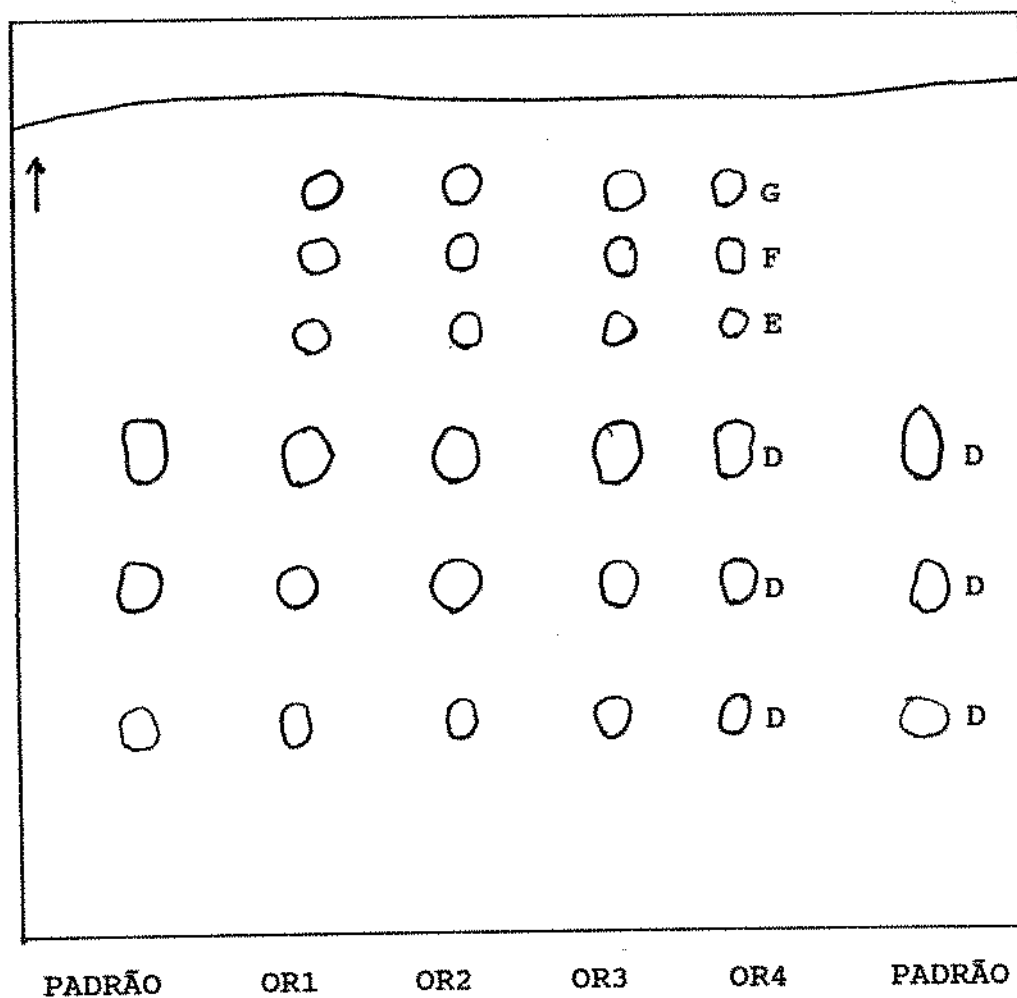


Figura 8 - Cromatograma de extratos etanólicos de oleoresina de cúrcuma e curcumina, após pulverização com vanilina-ácido sulfúrico (5:95).

D - rosa-amarronzado

E - rosa

F - azul

G - rosa-azulado

4.3 - PURIFICAÇÃO DE CURCUMINA

4.3.1 - PURIFICAÇÃO POR EXTRAÇÃO

Os métodos utilizados na obtenção de oleoresina desengordurada descritos na Tabela 2 do item 3.4.1, foram baseados em extrações sucessivas, inicialmente com solventes de baixa polaridade e pouco seletivos à matéria corante. Esses solventes foram usados com a finalidade de remover os princípios oleosos da cúrcuma em pó. Em seguida, a cúrcuma sofreu extração com acetona por 90 minutos na proporção de 1:6, a fim de se extrair a matéria corante. Os resultados das extrações - tratamentos 1 a 10 - são apresentados na Tabela 18.

Comparando-se os tratamentos 1 e 2 reforça-se a conclusão, exposta anteriormente, de que a temperatura tem grande influência na extração da curcumina. Analisando-se os tratamentos 1 e 5, onde se extraíram os princípios oleosos com hexano e éter de petróleo, respectivamente, e o corante com acetona, observa-se um teor maior de curcumina na extração realizada com éter de petróleo. Nos tratamentos 3 e 4, onde se realizaram extrações sucessivas com solventes de baixa polaridade, foram obtidos teores de curcumina maiores que nos tratamentos 1 e 5. No tratamento 4, cuja extração com éter de petróleo foi feita num tempo maior que no tratamento 3, foi obtida oleoresina com maior teor de curcumina. Pelas observações poder-se-ia supor uma maior

seletividade do éter de petróleo aos compostos oleosos da cúrcuma, quando comparado ao hexano.

Comparando-se os tratamentos 6 e 7, tem-se que a utilização da mistura acetona-ácido acético proporcionou polaridade menos eficiente na extração de curcumina, que a polaridade da acetona pura, possivelmente pelo aumento da polaridade da mistura.

Observando-se os tratamentos 4, 7 e 9, onde se diminuiu a quantidade de solventes de baixa polaridade, tem-se que a proporção cúrcuma em pó-éter de petróleo, ou hexano, de 1:5 e 1:6 apresentaram teores de curcumina similares, 45,46 e 45,95%, respectivamente. Já a diminuição da proporção para 1:4 fez com que o teor de curcumina diminuísse para 39,25%. Levando-se em conta que, segundo MATHAI (1976), o teor de óleo fixo e volátil na cúrcuma está entre 2,8 a 6,0%, essa diminuição é significativa.

Quando se comparam os tratamentos 7 e 8, e os tratamentos 9 e 10, nota-se que a lavagem da oleoresina com éter de petróleo aumenta o teor de curcumina pela remoção dos óleos ainda presentes na oleoresina. Esse aumento foi mais pronunciado no tratamento 8, obviamente por haver maior quantidade remanescente de óleo na oleoresina. A oleoresina obtida pelo tratamento 10 foi a que apresentou o maior teor de curcumina, 48,08%, embora, quando comparado com o resultado obtido pelo tratamento 8, 46,21%

de curcumina, nota-se que a diferença nos teores não justifica a maior quantidade de solvente e o maior tempo de extração utilizado no tratamento 10.

O tratamento 11, descrito na Tabela 3 do item 3.4.1, foi baseado na obtenção de oleoresina por extração com acetona, e posterior extração dos princípios oleosos da oleoresina com solventes de menor polaridade, na proporção de 1:2. Comparando-se o tratamento 11 com o tratamento 7, nota-se teores similares de curcumina quando se utiliza o método de extração dos princípios oleosos da oleoresina e não da cúrcuma em pó. Quando se aumenta a proporção de solventes, o método utilizado nos tratamentos 4 e 9, ou seja, extração dos princípios oleosos primeiramente da cúrcuma em pó, resulta em maiores teores de curcumina.

A utilização de água nos tratamentos 12, 13 e 14 foi feita baseada na baixa solubilidade da curcumina em água, pois esperava-se uma precipitação da curcumina que facilitaria a remoção dos princípios oleosos. Essa precipitação não ocorreu e esses tratamentos apresentaram baixos teores de curcumina, quando comparados com os demais.

Os resultados dos tratamentos 15, 16 e 17 descritos na Tabela 4 do item 3.5.1, são apresentados na Tabela 18. Os tratamentos 15 e 16 apresentaram baixos rendimentos de extração, quando comparados com os demais tratamentos. O grande número de passos desses tratamentos não justifica sua aplicação, uma vez

que os teores de curcumina na oleoresina são comparáveis aos dos demais tratamentos. A retirada do amido da cúrcuma em pó, anteriormente à extração, não melhorou a extractibilidade da curcumina. O tratamento 17 apresentou baixo teor de curcumina na oleoresina, o que inviabiliza sua aplicação.

Dos resultados obtidos pelos diversos tratamentos, nota-se que a obtenção de teores de curcumina maiores que 50%, somente por métodos de extração, é um trabalho de grande dificuldade. A oleoresina desengordurada, livre dos princípios oleosos responsáveis pelas características de aroma e amargor, pode ser utilizada em grande quantidade de produtos alimentícios (FREUND et alii, 1988)

Para se obter curcumina com pureza de interesse comercial, diversos métodos de cristalização foram ensaiados e são discutidos no próximo item.

Tabela 18 - Teor de curcumina na oleoresina obtida por diversos tratamentos.

Tratamento	Rendimento de extração (%)	Teor de curcumina na oleoresina (%)
1	8,52	38,53
2	8,00	27,79
3	9,24	41,11
4	8,65	45,95
5	9,47	39,75
6	-	33,79
7	-	39,25
8	-	46,21
9	6,70	45,46
10	-	48,08
11	-	40,44
12	-	33,93
13	-	35,33
14	-	28,29
15	3,90	39,99
16	3,40	44,27
17	-	23,20

4.3.2 - PURIFICAÇÃO POR CRISTALIZAÇÃO

Os parâmetros de cristalização foram definidos conforme exposto na Tabela 5 do item 3.4.2. Curcumina não cristalizou em acetona em nenhuma das condições utilizadas, provavelmente pela alta solubilidade do pigmento no solvente. Em etanol, a melhor separação de cristais e sobrenadante foi obtida na proporção de 1:3, enquanto na proporção de 1:1 quase não houve separação. Em isopropanol, a cristalização foi menos acentuada que em etanol e a melhor separação foi na proporção de 1:3. Para os dois solventes a cristalização foi mais acentuada a -8°C . A temperatura ambiente não favoreceu a formação de cristais, para os dois solventes.

Em ácido acético a cristalização foi menos acentuada que em etanol e isopropanol. A melhor separação foi na proporção de 1:3 a 7°C pois a -8°C a solução se solidificou. A mistura etanol-ácido acético proporcionou cristalização mais acentuada que em ácido acético puro.

Dentre todos os ensaios realizados a separação mais nítida de cristais e sobrenadante, e a maior quantidade de cristais, foi conseguida com etanol na proporção oleoresina de cúrcuma-etanol de 1:3 e a -8°C .

Esses parâmetros foram utilizados nas tentativas de purificação da curcumina por cristalização pelos métodos

descritos no item 3.4.2.

Os resultados dos teores de curcumina nos cristais, obtidos por métodos de cristalização, estão demonstrados na Tabela 19.

Durante a realização dos ensaios 1, 2 e 3, utilizando o método A, ou seja, cristalização em etanol e adição de água para favorecer a precipitação de curcumina, notou-se que o aumento do teor de curcumina estava diretamente relacionado com a lavagem do precipitado com etanol e que a baixa temperatura favoreceu a cristalização. Água, como fator de precipitação, não teve atividade considerável, principalmente quando se compara os teores com os obtidos pela utilização do método D.

Os ensaios 4 e 5 foram realizados com variação de pH baseada na mudança de coloração, ou seja, a solução foi levada a pH alcalino até se tornar laranja avermelhado e a pH ácido até se tornar amarelo claro e posterior cristalização em etanol. A partir dessas observações, procurou-se definir os pHs ideais na cristalização de curcumina, através dos ensaios 6 a 16.

No ensaio 6 a mistura oleoresina e etanol na proporção de 1:3 foi levada a pH 9,52 com NaOH 1N e o pH reduzido com HCl 1N a pH 4,92. No ensaio 7 o pH foi de 8,09 para 2,98, no ensaio 8 de pH 9,13 para pH 1,27 e no ensaio 9 de pH 7,63 para pH 1,15. Numa primeira análise poder-se-ia concluir que uma redução de pH

mais acentuada levaria à obtenção de teores maiores de curcumina. Observando-se os ensaios 10 a 16, onde os valores de pH foram, respectivamente, ensaio 10 pH 8,45 a 3,74; ensaio 11 pH 7,27 a 1,12; ensaio 12 pH 7,56 a 0,98; ensaio 13 pH 9,98 a 2,64; ensaio 14 pH 10,08 a 2,14; ensaio 15 pH 10,02 a 3,43 e ensaio 16 pH 6,62 a 5,58, não foi possível concluir qual o pH ideal para provocar a precipitação da curcumina e, tampouco se a variação de pH realmente forçaria a precipitação do pigmento. Apenas reforçou-se a observação de que as lavagens sucessivas com etanol estão diretamente relacionadas com o teor de curcumina obtido nos cristais.

Nos ensaios 17 a 19, onde se utilizou oleoresina desengordurada, obtida pelos métodos descritos no item 3.5.1, não houve formação de precipitado, contudo nada se pode concluir a respeito da influência dos óleos fixos e voláteis na cristalização da curcumina.

Quando se compara os ensaios 20 e 21, observa-se que a redução da temperatura, de -8°C para -16°C , favorece o aumento do teor de curcumina nos cristais.

A reaplicação do método de precipitação alcalino-ácido, realizado nos ensaios 22, 24 e 25 provoca um aumento dos teores de curcumina nos cristais, apesar de diminuir o rendimento em massa de cristais de curcumina.

Pelos ensaios 26 a 28, realizados por precipitação em etanol, com redução de pH com HCl ou ácido acético, na temperatura de -8°C e 40°C, tem-se que a utilização de HCl promove um aumento mais acentuado de curcumina nos cristais que ácido acético, e que a temperatura de -8°C utilizada no ensaio 26 favorece a cristalização, quando comparada à temperatura de 40°C usada no ensaio 28. Os teores de curcumina obtidos pelo método C são menores que os do método alcalino-ácido.

Os ensaios 29 a 43, utilizando o método de cristalização em etanol, retirada de sobrenadante e lavagens sucessivas, possibilitaram a conclusão de que o número de lavagens está diretamente relacionado com o teor de curcumina nos cristais.

Pelo ensaio 43 obtiveram-se cristais de curcumina com 84,27% de pureza e rendimento, em relação a cúrcuma em pó, de 2,15%. JANAKI & BOSE (1967), obtiveram curcumina pura com rendimento de 1,1%. VERGHESE (1989) isolou curcumina por extração com acetato de etila e precipitação do pigmento a 25 °C, com rendimento de 2,77% e pureza de 90,42%.

Os cristais de curcumina obtidos no ensaio 43 foram cromatografados em placa de sílica gel, conforme o método descrito no item 3.3.3 e não apresentaram as manchas características dos óleos fixos e voláteis, comprovando a eficiência do processo de purificação. Os ensaios 44 e 45 mostram

que, lavagem dos cristais com éter de petróleo ou hexano aumentam o teor de curcumina nos cristais, provavelmente pela remoção dos óleos remanescentes.

Dentre todos os ensaios de purificação expostos, os que proporcionaram maiores teores de curcumina, maiores rendimentos e maior facilidade operacional, pelo menor número de passos, foram os ensaios 37, 39, 41 e 43, baseados na cristalização da curcumina em etanol em baixa temperatura.

Tabela 19 - Teores de curcumina após o processo de purificação por cristalização.

Ensaio	Método de cristalização *	Teor de curcumina na OR** (%)	Teor de curcumina nos cristais (%)
1	A	28,06	36,93
2	A	35,36	49,09
3	A	35,36	56,19
4	B	25,51	74,23
5	B	36,44	78,93
6	B	30,36	39,13
7	B	35,46	40,76
8	B	32,87	56,10
9	B	35,91	59,50
10	B	34,10	68,93
11	B	32,02	63,02
12	B	31,59	66,10
13	B	35,32	70,37
14	B	35,32	62,61
15	B	35,32	63,20
16	B	25,46	69,85
17	B	45,46	45,78
18	B	45,46	n ppt
19	B	44,06	"
20	B	30,63	62,49
21	B	30,63	69,86
22	B	69,86	85,50
23	D	31,59	64,44
24	B	64,44	75,22
25	B	75,22	80,02
26	C	39,25	59,63
27	C	35,46	45,64
28	C	35,36	47,86
29	D	28,06	42,43
30	D	29,63	57,90
31	D	25,46	40,99
32	D	24,66	49,15
33	D	32,72	50,50
34	D	30,23	48,28
35	D	31,59	64,44
36	D	46,21	n ppt
37	D	35,36	86,33
38	D	34,10	71,76
39	D	33,83	79,89
40	D	35,96	61,62
41	D	33,83	91,99
42	D	35,36	65,75
43	D	35,54	84,27
44	E	69,86	73,53
45	E	73,12	75,17

Tabela 19 - Continuação

* conforme item 3.5.2

** teor de curcumina na oleoresina usada no ensaio

ensaio 1:	1	lavagem e ppt a T ambiente
"	2:	3 lavagens e ppt a T ambiente
"	3:	3 lavagens e ppt a -8 °C
"	21:	ppt a -16 °C
"	22:	aplicado no ensaio anterior
"	24:	" " " "
"	25:	" " " "
"	26:	abaixa/o de pH c/ HCl
"	27:	" " " c/ ácido acético
"	28:	" " " c/ HCl e ppt a 40 °C
"	44:	lavagem com éter de petróleo
"	45:	" " hexano

4.4 - ESTABILIDADE DA CURCUMINA

Após estudar a extração da curcumina dos rizomas de cúrcuma, foi estudada a estabilidade do pigmento na forma de oleoresina e na forma de cristais, em relação à temperatura, ao pH e à luz.

4.4.1 - EFEITO DA TEMPERATURA

Os resultados dos teores de curcumina na oleoresina de cúrcuma e em cristais de curcumina, em função de diferentes tratamentos térmicos, são apresentados nos ANEXOS 3 e 4.

Os dados foram equacionados e as equações de regressão linear que melhor descrevem os tratamentos térmicos são :

Oleoresina de cúrcuma: Temperatura = 50 °C

$$T = 33,00 - 0,0025t \quad r^2 = 0,255$$

Temperatura = 75 °C

$$T = 33,47 - 0,0051t \quad r^2 = 0,795$$

Temperatura = 100 °C

$$T = 33,47 - 0,0066t \quad r^2 = 0,895$$

Temperatura = 125 °C

$$T = 33,22 - 0,4400t \quad (t \text{ de } 0 \text{ a } 5) \quad r^2 = 1$$

$$T = 31,14 - 0,0170t \text{ (t de 5 a 180)} \quad r^2 = 0,971$$

Cristais de
curcumina

Temperatura = 50 °C

$$T = 77,03 - 0,0135t \quad r^2 = 0,881$$

Temperatura = 75 °C

$$T = 78,70 - 0,0141t \quad r^2 = 0,729$$

Temperatura = 100 °C

$$T = 75,25 - 0,0654t \text{ (t de 0 a 20)} \quad r^2 = 0,947$$

$$T = 74,22 - 0,0119t \text{ (t de 20 a 180)} \quad r^2 = 0,790$$

Temperatura = 125 °C

$$T = 75,72 - 0,2881t \text{ (t de 0 a 15)} \quad r^2 = 0,867$$

$$T = 71,82 - 0,0427t \text{ (t de 15 a 180)} \quad r^2 = 0,955$$

onde T = teor de curcumina (%) e t = tempo (min).

Para oleoresina de cúrcuma as equações mostram que, nas temperaturas de 50°C, 75°C e 100°C, houve degradação de 0,0025; 0,0051 e 0,0066% de curcumina por minuto de tratamento térmico. Sendo a diferença mínima significativa (d.m.s.) do teste de Tukey igual a 0,0025 tem-se que, às temperaturas de 75°C e 100°C, a degradação de curcumina foi significativamente superior que à de 50°C. A degradação de curcumina à 100°C não foi significativamente superior à de 75°C.

Na temperatura de 125°C, tratamento térmico por 5

minutos levou à degradação de 0,4400% de curcumina por minuto e, a partir deste tempo, a taxa de degradação foi de 0,0170 %, sendo significativamente maior que nas demais temperaturas.

Para cristais de curcumina, as equações mostram que a 50°C houve uma degradação de curcumina à razão de 0,0135% por minuto de tratamento térmico. A 75°C a taxa de degradação foi de 0,0141% por minuto. Sendo a d.m.s. do teste de Tukey igual a 0,0006, não houve diferença significativa entre esses tratamentos.

A 100°C, nos primeiros 20 minutos de tratamento térmico houve uma degradação de curcumina na razão de 0,0654 % por minuto; a partir daí a taxa de degradação linear foi de 0,0119 % por minuto.

A degradação de cristais de curcumina a 125°C foi maior que nas demais temperaturas, apresentando dois comportamentos, inicialmente até 15 minutos, com degradação de curcumina à razão de 0,2881 % por minuto de tratamento e, a partir daí, a taxa caiu para 0,0427 % por minuto.

A Tabela 20 mostra as perdas nos teores de curcumina na oleoresina e nos cristais aos 180 minutos de tratamento térmico. Essas perdas também podem ser visualizadas na Figura 9. As Figuras 10 e 11 mostram as perdas de curcumina nas temperaturas de 100°C e 125 °C, em função do tempo de reação.

Conforme os resultados apresentados na Tabela 20, não houve perdas substanciais quando as soluções foram submetidas a 50°C, 75°C e 100°C. A 125°C o efeito térmico se torna mais destrutivo, com perdas dos teores iniciais de curcumina de 15,25% para oleoresina de cúrcuma e de 16,45% para cristais de curcumina. Estes valores foram calculados supondo comportamento linear de 0 a 180 minutos, o que não ocorreu. As perdas, em conformidade com o comportamento linear dos tratamentos, também se encontram na Tabela 20, embora a diferença entre os valores seja muito pequena.

Dos espectros, apresentados nos ANEXOS 5 a 8, pode-se observar a diminuição dos valores de absorbância em função do tempo para os vários tratamentos térmicos. Os espectros não registraram quaisquer outras absorções em outros comprimentos de onda.

A velocidade das reações de degradação térmica (aparentemente de primeira ordem) e o tempo de meia vida, obtidos a partir das equações 1 e 2 do item 3.5.5, são fornecidos na Tabela 20. A representação gráfica das equações são apresentadas nos ANEXOS 9 a 16.

Na temperatura de 50°C, a velocidade da reação é ligeiramente superior para cristais de curcumina e, a 75°C, essa diferença é da ordem de 1,7 vezes. As temperaturas mais elevadas provocaram aumento na velocidade de reação já nos minutos

iniciais de tratamento. A 100°C a velocidade da reação é cerca de 5 vezes maior para cristais de curcumina, até 20 minutos de reação, a partir deste tempo as velocidades de reação das soluções de oleoresina e cristais de curcumina se aproximam.

A 125°C, e até 5 minutos de reação, a degradação da curcumina na forma de oleoresina é aproximadamente 3,3 vezes mais rápida. De 5 a 15 minutos a reação é 7,6 vezes mais rápida para cristais e, a partir de 15 minutos, a velocidade é ligeiramente superior na degradação de curcumina na forma de cristais. O aumento da velocidade de degradação da curcumina na oleoresina de cúrcuma nos 5 minutos iniciais poderia se devido a influência de outros componentes da oleoresina que intensificaram a degradação da curcumina. Entretanto, nada se pode afirmar sobre a natureza dos produtos resultantes da exposição da curcumina aos diversos tratamentos térmicos.

Pelos resultados obtidos constata-se a grande estabilidade da curcumina ao calor, principalmente até 100°C, faixa em que se encontram a maioria das temperaturas de processamento de alimentos.

Tabela 20 - Constantes de velocidade de reação (K), meia-vida ($t_{1/2}$) e perda de curcumina no tratamento térmico.

Condições experimen- tais	K X 10 ⁻³ (h ⁻¹)	t _{1/2} (h)	Perda em 180 min (%)
OR, 50 °C	7,70	90	2,28
OR, 75 °C	9,09	76	2,69
OR, 100 °C	12,87	54	3,79
OR, 125 °C	823,87 (0-5 min)	-	15,25 6,63 (0-5min)
	33,18 (5-180 min)	21	9,22 (5-180min)
CC, 50 °C	9,51	73	2,81
CC, 75 °C	15,14	46	4,44
CC, 100 °C	61,51 (0-20min)	-	4,82 2,03 (0-20min)
	10,86 (20-180min)	64	2,85 (20-180min)
CC, 125 °C	250,72 (0-15min)	-	16,45 6,08 (0-15min)
	42,55 (15-180min)	16	11,04 (15-180min)

OR = oleoresina de cúrcuma

CC = cristais de curcumina

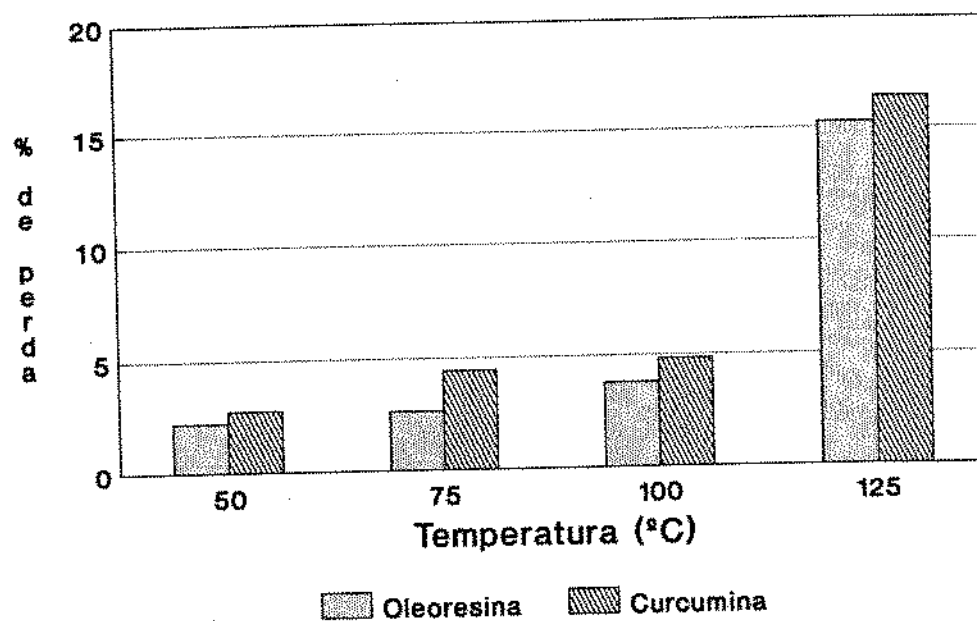


Figura 9 - Perda de curcumina em oleoresina de cúrcuma e cristais de curcumina, em diferentes temperaturas, por 3 horas.

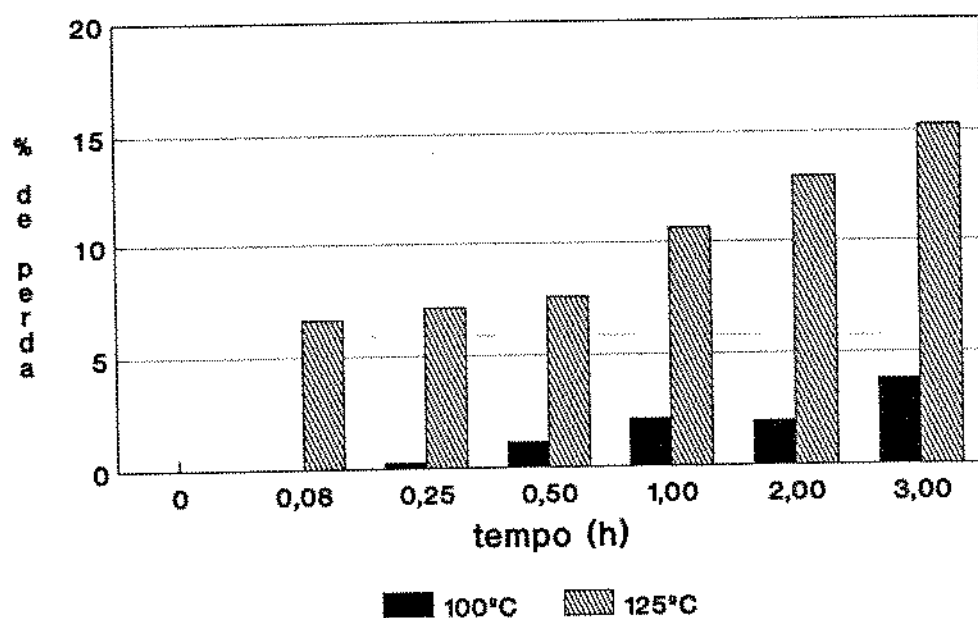


Figura 10 - Perda de curcumina em oleoresina de cúrcuma, a 100°C e 125°C.

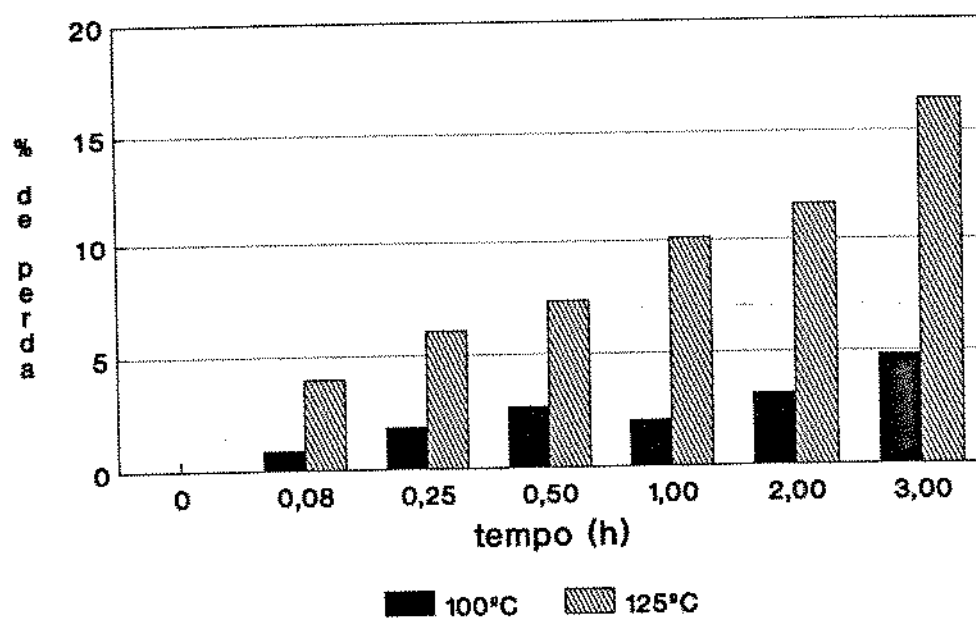


Figura 11 - Perda de curcumina em cristais de curcumina, a 100°C e 125°C.

4.4.2 - EFEITO DO pH

Os resultados do efeito do pH e temperatura de estocagem sobre o teor de curcumina, nas soluções de oleoresina de cúrcuma e cristais de curcumina, são apresentados nos ANEXOS 17 a 20. Esses resultados foram submetidos a regressão linear e as equações que melhor descrevem os tratamentos são citadas durante a discussão.

O estudo da influência do pH sobre a curcumina apresentou um comportamento peculiar. Para entender e discutir esse comportamento a análise dos resultados será realizada em três etapas. Primeiramente será analisada a perda de curcumina logo após a adição de solução-tampão, na segunda etapa será verificado o comportamento do teor de pigmento de 0 a 24 horas e, por último, de 24 a 120 horas.

4.4.2.1 - OLEORESINA DE CÚRCUMA

4.4.2.1.1 - TEMPERATURA DE 7°C

Após a adição de solução-tampão foi observada uma perda imediata do teor de curcumina em todos os pHs. Entre 0 e 24 horas foi observado aumento no teor de curcumina em relação ao tempo zero, com exceção de pH 7,56, e, entre 24 e 120 horas o teor de curcumina voltou a decrescer. A tabela 21 fornece o comportamento do teor de curcumina nessas etapas.

Tabela 21 - Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma estocada a 7 °C, em diversos pHs.

pH	imediata (%)	0-24 horas (%)	24-120 horas (%)*	0-120 horas (%)**	total (%***)
2,48	7,62	3,86 ⁺	6,81	3,20	10,58
3,30	7,33	5,74 ⁺	8,52	3,26	10,19
4,20	9,15	3,47 ⁺	3,66	0,32	9,44
5,15	8,26	1,52 ⁺	1,85	0,35	8,58
6,09	7,71	1,34 ⁺	1,64	0,31	8,00
6,99	8,96	3,42 ⁺	3,31	0,10 ⁺	8,86
7,56	15,62	5,74	3,37	8,92	23,14

+ aumento no teor de curcumina

* calculado em função do teor de curcumina no tempo 24 horas

** calculado supondo um comportamento linear da taxa de degradação

*** calculado em função do teor de curcumina na oleoresina sem adição de solução-tampão (31,37 %)

Supondo um comportamento linear de 0 a 120 horas, a seguinte relação poderia ser aplicada:

$$\text{perda total} = \text{perda imediata} + \text{perda de 0 a 120 horas}$$

tratamento, conforme se pode verificar pelas equações de regressão linear abaixo, a seguinte relação teria maior aplicação:

$$\text{perda total} = \text{perda imediata} - \text{aumento 0 a 24 horas} + \text{perda 24 a 120 horas}$$

As perdas podem ser visualizadas na Figura 12.

As equações de regressão linear que melhor descrevem os tratamentos de 0 a 120 horas são apresentadas a seguir.

pH 2,48	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,98 + 0,0467t$	$T = 30,55 - 0,0210t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,996$
pH 3,30	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 29,07 + 0,0696t$	$T = 31,07 - 0,0254t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,937$
pH 4,20	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,50 + 0,0413t$	$T = 29,85 - 0,0118t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,978$
pH 5,15	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 29,15 + 0,0029t$	$T = 29,30 - 0,0053t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,962$

pH 6,09	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,95 + 0,0163t$	$T = 29,43 - 0,0048t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,981$
pH 6,99	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,56 + 0,0421t$	$T = 29,65 - 0,0092t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,881$
pH 7,66	0 - 48 horas	48 - 120 horas
	$T = 26,34 - 0,0465t$	$T = 24,33 - 0,0018t$
	$r^2 = 0,947$	$r^2 = 1$

onde T = teor de curcumina (%) e t = tempo (horas)

O aumento observado entre 0 e 24 horas, nos pHs de 2,48 a 6,99, poderia estar relacionado com a baixa solubilidade da curcumina em água, nessa faixa de pH (TONNESEN & KARLSEN, 1984). O aumento também poderia estar relacionado com o esgotamento da solução-tampão que levaria a molécula de curcumina para a forma protonada H_4A^+ , e posterior equilíbrio na forma neutra H_3A . (Figura 3). O aumento do teores de curcumina entre 0 e 24 horas foi submetido à análise de variância, não havendo diferença significativa entre eles.

A partir de 24 horas de reação houve degradação de 0,0210% de curcumina por hora de estocagem em pH 2,48; para pHs 3,30; 4,20; 5,15; 6,09 e 6,99 essa degradação foi, respectivamente, de 0,0254%; 0,0118%; 0,0053%; 0,0048% e 0,0092%

de curcumina por hora de estocagem. Sendo a d.m.s. do teste de Tukey igual a 0,0083, a partir de 24 horas de reação, tem-se que nos pHs 2,48 e 3,30 não há diferença significativa na taxa de degradação de curcumina, e que nesses pHs a degradação de curcumina foi significativamente superior à dos pHs 4,20; 5,15; 6,09 e 6,99. Nos pHs 4,20; 5,15; 6,09 e 6,99 as taxas de degradação não diferiram significativamente entre si.

Em pH 7,66 um tratamento de 48 horas levou a uma taxa de degradação de 0,0465 % de curcumina por hora e, a partir desse tempo, a taxa de degradação caiu para 0,0018%. Nesse pH a degradação foi significativamente maior que nas outras faixas de pH, principalmente nas primeiras horas de reação.

Da Tabela 21 nota-se que em pH 7,56 houve perdas em todas as etapas de tratamento e que estas foram mais acentuadas que nos demais pHs. Os menores valores de perda total foram nos de pHs 5,15; 6,09 e 6,99.

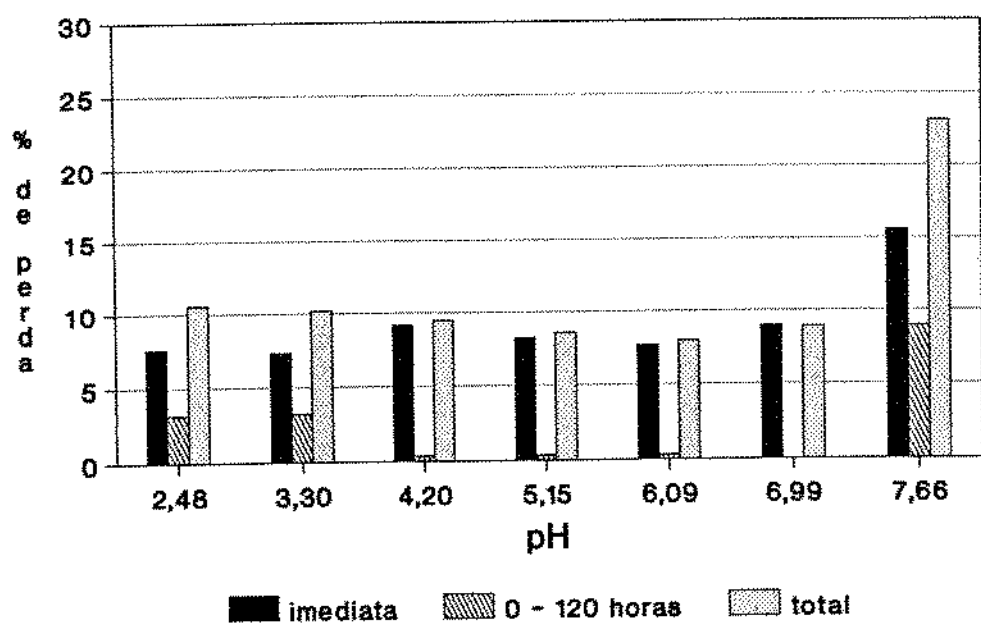


Figura 12 - Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma estocada a 7 °C, em diversos pHs.

4.4.2.1.2 - TEMPERATURA DE 37°C

As soluções de oleoresina de cúrcuma, estocadas a 37°C, não apresentaram aumentos nos teores de curcumina durante o tratamento como o observado na estocagem a 7°C. Em todos os valores de pH houve diminuição do teor de curcumina. A Tabela 22 fornece o comportamento dos teores de curcumina, e as perdas podem ser visualizadas na Figura 13.

Tabela 22 - Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma estocada a 37°C, em diversos pHs.

pH	imediate	0-24 horas	24-120 horas	0-120 horas*	total**
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
2,44	5,15	8,36	1,75	9,96	14,60
3,28	6,18	6,80	2,19	8,84	14,47
4,27	5,62	2,14	2,40	4,48	9,84
5,18	6,90	2,80	1,72	4,47	11,06
6,07	7,96	2,26	1,84	4,06	11,69
6,98	6,84	5,04	5,27	10,04	16,18
7,66	10,44	18,78	1,04	19,62	28,01

* calculado supondo comportamento linear da taxa de degradação

** calculado em função do teor de curcumina na oleoresina, antes da adição da solução-tampão (30,27%)

As equações de regressão linear que melhor descrevem os tratamentos, no período de 0 a 120 horas, são :

pH 2,44	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,71 - 0,1000t$	$T = 26,56 - 0,0060t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,923$
pH 3,28	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,40 - 0,0725t$	$T = 26,63 - 0,0061t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,935$
pH 4,27	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,57 - 0,0254t$	$T = 28,04 - 0,0065t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,928$
pH 5,18	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,18 - 0,0329t$	$T = 27,51 - 0,0049t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,954$
pH 6,07	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 27,86 - 0,0263t$	$T = 27,33 - 0,0051t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,991$
pH 6,98	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 28,20 - 0,0592t$	$T = 27,27 - 0,0155t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,968$

pH 7,66	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 27,11 - 0,2121t$	$T = 22,05 - 0,0023t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,958$

onde T = teor de curcumina (%) e t = tempo (horas)

As análises estatísticas mostram que, de 0 a 24 horas, as taxas de degradação para os pHs 2,44; 3,28; 4,27; 5,18; 6,07; 6,98 e 7,66 foram, respectivamente, de 0,1000%; 0,0725%; 0,0254%; 0,0329%; 0,0263%; 0,0592% e 0,2121% de curcumina por tempo de estocagem. Sendo a d.m.s. do teste de Tukey igual a 0,0628, não houve diferença significativa na diminuição de curcumina entre pH 3,28 e 6,98, nas primeiras 24 horas de reação. A diminuição do teor foi significativamente mais acentuada em pH 2,44 que nos pHs 3,38 a 6,98. Em pH 7,66 a diminuição do teor foi significativamente mais acentuada que nos demais pHs.

A partir de 24 horas houve degradação de 0,0060% de curcumina por hora de estocagem em pH 2,44; para pHs 3,28; 4,27; 5,18; 6,07; 6,98 e 7,66 essa degradação foi, respectivamente, de 0,0061%; 0,0065%; 0,0049%; 0,0051%; 0,0155% e 0,0023%. Estes valores não diferem significativamente entre si, visto que a d.m.s. do teste de Tukey foi de 0,0168. Isto indica que, a partir de 24 horas de estocagem a 37°C, a degradação de curcumina entre pH 2,44 e pH 7,66 teve o mesmo comportamento.

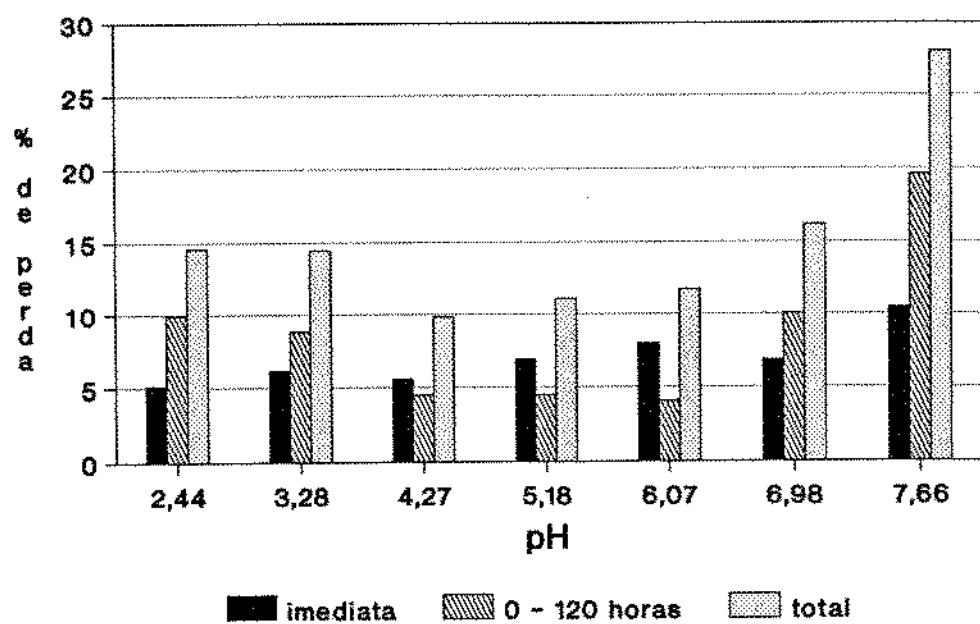


Figura 13 - Perdas de curcumina em oleoresina de cúrcuma esto-
cadas a 37°C, em diversos pHs.

4.4.2.2 - CRISTAIS DE CURCUMINA

4.4.2.2.1 - TEMPERATURA DE 7°C

A influência do pH em soluções de cristais de curcumina estocadas a 7°C, teve o mesmo comportamento que as soluções de oleoresina estocadas à mesma temperatura. A Tabela 23 mostra os teores de curcumina, em função do tempo de tratamento, nos diversos pHs.

Tabela 23 - Perdas de curcumina em cristais de curcumina estocados a 7°C, em diversos pHs.

pH	imediate (%)	0-24 horas (%)	24-120 horas* (%)	0-120 horas** (%)	total (%)***
2,47	8,32	0,42 ⁺	3,00	2,59	10,69
3,24	6,96	1,01 ⁺	3,44	2,47	9,26
4,23	7,58	0,20 ⁺	2,34	2,14	9,56
5,23	6,99	0,82 ⁺	0,65	0,16 ⁺	6,84
6,18	10,56	4,40 ⁺	0,43	3,97 ⁺	7,01
6,98	11,45	5,44 ⁺	0,52	4,89 ⁺	7,12
7,56	11,69	3,12 ⁺	5,81	2,87	14,23

+ aumento no teor de curcumina

* calculado em função do teor no tempo 24 horas

** calculado supondo um comportamento linear da taxa de degradação e em função do teor no tempo 0

*** calculado em função do teor de curcumina nos cristais sem adição de solução-tampão (79,71 %)

As perdas podem ser visualizadas na figura 14. As equações de regressão linear que melhor descrevem os tratamentos, de 0 a 120 horas, são apresentadas a seguir.

pH 2,47	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 73,08 + 0,0129t$	$T = 73,99 + 0,0233t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,997$
pH 3,24	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 74,16 + 0,0313t$	$T = 75,07 - 0,0240t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,854$
pH 4,23	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 73,67 - 0,0063t$	$T = 73,82 - 0,0155t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,753$
pH 5,23	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 74,14 - 0,0254 t$	$T = 74,98 - 0,0057t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,878$
pH 6,18	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 71,29 - 0,1313t$	$T = 74,47 - 0,0030t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,881$
pH 6,98	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 70,58 - 0,1600t$	$T = 74,50 - 0,0040t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,9812$

pH 7,56	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 70,39 + 0,0917t$	$T = 73,02 - 0,0403t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,9039$

O aumento do teor de curcumina entre 0 e 24 e horas foi submetido à análise de variância, sem diferença significativa em pH 2,47; 3,24; 4,23; 5,23 e 7,56, visto que a d.m.s. do teste de Tukey foi de 0,1010. As taxas de aumento de curcumina foram significativamente maiores em pH 6,18 e 6,98 que em pH 2,47 a 5,23. Não houve diferença significativa no aumento do teor de curcumina nos pHs 6,18; 6,98 e 7,56.

A partir de 24 horas houve degradação de 0,0233% de curcumina por hora de estocagem, em pH 2,44; para pH 3,24; 4,23; 5,23; 6,18; 6,98 e 7,56, essa degradação foi, respectivamente, de 0,0240%; 0,0155%; 0,0057%; 0,0030%; 0,0040% e 0,0403% de curcumina por hora de estocagem. Sendo a d.m.s. do teste de Tukey igual a 0,0260, tem-se que pHs 2,47 a 6,98 não diferem significativamente na taxa de degradação. Os pHs 2,47; 3,24; 4,23 e 7,56 também não diferem significativamente. Os pHs 5,23; 6,18 e 6,98 apresentaram as menores taxas de degradação de curcumina e diferiram significativamente da degradação em pH 7,65, ao nível de 5% de probabilidade.

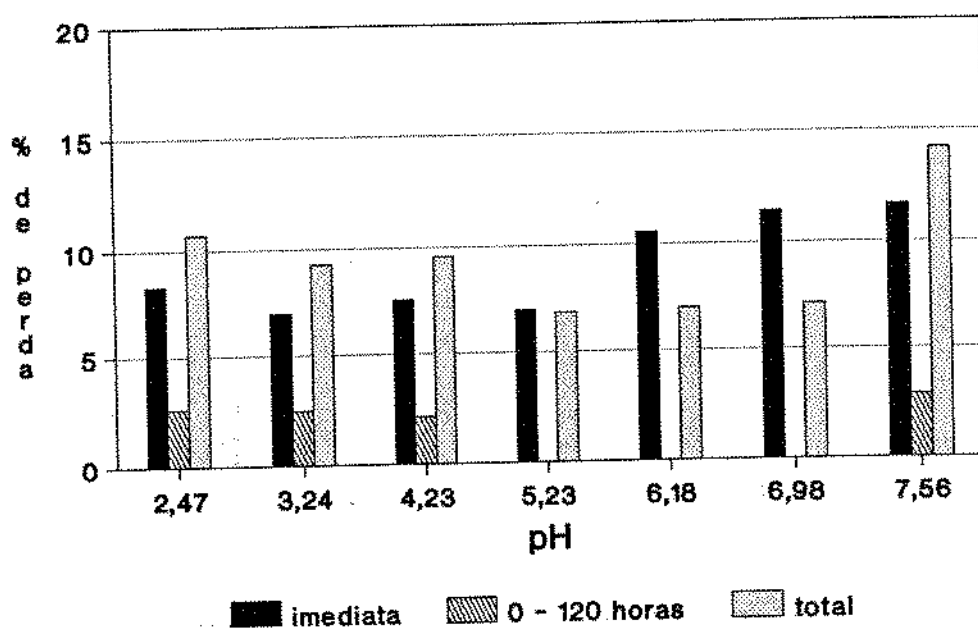


Figura 14 - Perdas de curcumina em cristais de curcumina estocados a 7°C, em diversos pHs.

A perda imediata foi mais acentuada em pHs 6,18; 6,98 e 7,56. A perda total de curcumina, após 120 horas de tratamento, foi menor em pHs 5,23; 6,18 e 6,98.

4.4.2.2.2 - TEMPERATURA DE 37°C

As soluções de cristais de curcumina, estocados a 37°C, apresentaram aumento dos teores de curcumina somente em pHs 6,18; 6,98 e 7,56, nos demais pHs houve diminuição do teor. A Tabela 24 fornece o comportamento dos teores de curcumina.

Tabela 24 - Perdas de curcumina em cristais de curcumina estocados a 37°C, em diversos pHs.

pH	imediata	0-24 horas	24-120 horas*	0-120 horas**	total***
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
2,47	8,32	0,51	1,95	2,45	10,56
3,24	6,96	0,38	4,00	4,36	11,01
4,23	6,89	1,50	0,94	2,43	9,15
5,23	6,98	0,05	1,52	1,58	8,46
6,18	10,56	2,02 ⁺	1,37	0,61 ⁺	10,01
6,98	11,45	1,62 ⁺	4,22	2,68	13,83
7,56	11,69	1,97 ⁺	6,28	4,44	15,61

+ aumento no teor de curcumina

* calculado em função do teor no tempo 24 horas

** calculado supondo um comportamento linear da taxa de degradação

*** calculado em função do teor de curcumina nos cristais sem adição de solução-tampão

As perdas podem ser visualizadas na figura 15.

As equações de regressão que melhor descrevem os tratamentos entre 0 e 120 horas são :

pH 2,47	0 - 120 horas	
	$T = 73,14 - 0,0149t$	$r^2 = 0,970$
pH 3,24	0 - 120 horas	
	$T = 74,29 - 0,0280t$	$r^2 = 0,984$
pH 4,23	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 74,22 - 0,0460t$	$T = 73,85 - 0,0063t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,820$
pH 5,23	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 74,14 - 0,0017t$	$T = 74,39 - 0,0118t$
	$r = 1$	$r = 0,999$
pH 6,18	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 71,29 + 0,0600t$	$T = 73,09 - 0,0111t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,958$
pH 6,98	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 70,58 - 0,0475t$	$T = 72,27 - 0,0303t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,981$

pH 7,56	0 - 24 horas	24 - 120 horas
	$T = 70,39 + 0,0579t$	$T = 73,51 - 0,0506t$
	$r^2 = 1$	$r^2 = 0,942$

A taxa de degradação da curcumina ao longo das 120 horas de reação, em pHs 2,47 e 3,24, foi de 0,0149 % e 0,0280% de curcumina por hora de estocagem, respectivamente. Essas taxas não diferiram significativamente entre si, visto que a d.m.s. foi de 0,0180, embora a perda imediata tenha sido maior em pH 2,47.

Entre 0 e 24 horas de reação a taxa de degradação não diferiu entre pHs 2,47; 3,24; 4,23 e 5,23. Em pHs 6,18; 6,98 e 7,56 foi observado aumento no teor de curcumina nas primeiras 24 horas de reação, que não deferiu significativamente entre si.

Entre 24 e 120 horas de reação não existiu diferença significativa na taxa de degradação em pHs 2,47; 3,24; 4,23; 5,23; 6,18 e 6,98 uma vez que a d.m.s. foi igual a 0,0327. Não foi observada diferença significativa na taxa de degradação em pHs 3,24; 6,98 e 7,56. Os valores de pH 2,47; 4,23; 5,23 e 6,18 apresentaram uma taxa de degradação significativamente menor que em 7,56. A perda imediata foi maior em pHs 6,07; 6,98 e 7,66. A perda total, após 120 horas, foi menor em pHs 4,23 e 5,23.

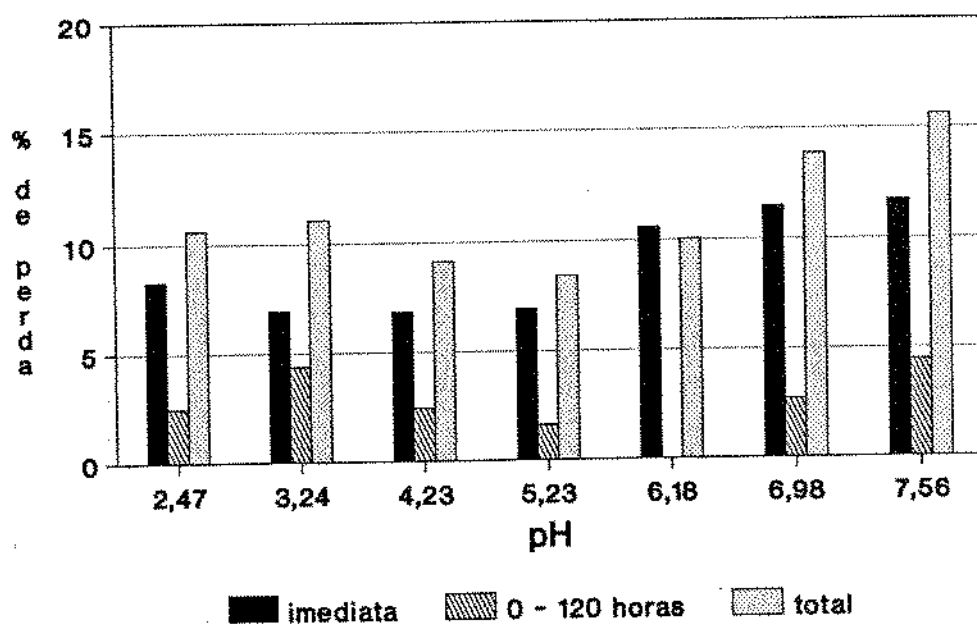


Figura 15 - Perdas de curcumina em cristais de curcumina estocados a 37°C, em diversos pHs.

Pela complexidade do comportamento dos teores de curcumina, em todos os tratamentos, não foi realizada a determinação da velocidade das reações. Entretanto, pode-se concluir que na temperatura de estocagem de 7°C, a faixa de pH de maior estabilidade foi de 5 a 7, tanto para soluções de oleoresina como para cristais de curcumina. Na estocagem a 37°C a maior estabilidade esteve entre pH 4 a 6, para as duas soluções.

A variação de absorbância com o tempo de reação pode ser observada nos espectros mostrados nos ANEXOS 21 a 24. Não foram observadas alterações significativas no comprimento de onda de máxima absorção, nem absorções em outros comprimentos de onda.

Na faixa de pH de 2 a 7 as soluções de curcumina tem uma coloração amarela, a maioria das moléculas de curcumina está na forma neutra (H_3A), conforme a Figura 3. Em pH 7,66 a cor da solução muda para vermelho alaranjado, inicia-se a dissociação do enol e as formas H_3A , H_2A^- estão em equilíbrio nessa faixa de pH. A dissociação do fenol (forma HA^{2-} e A^{3-}) começa a ocorrer a partir de pH 8,5 (TONNESEN & KARLSEN, 1984).

PRICE & BUESCHER (1992) propuseram um mecanismo de degradação alcalina de curcumina que consiste de 2 reações competitivas, mostradas na Figura 16. Na reação 1, em $pH > 7$, ocorre a clivagem hidrolítica da betacetona central da curcumina, formando produtos de degradação da primeira fase - essa reação é irreversível. A reação 2 envolve um equilíbrio entre a curcumina dissociada e o solvente com o equilíbrio favorecendo a reação na forma A; quando o pH do sistema é aumentado, o equilíbrio da reação 2 é favorecido em direção à forma B; como há mais ânions na solução para fomentar a reação 1, a forma A é consumida mais rapidamente e a hidrólise acelerada. A reversão para a forma A é mais difícil.

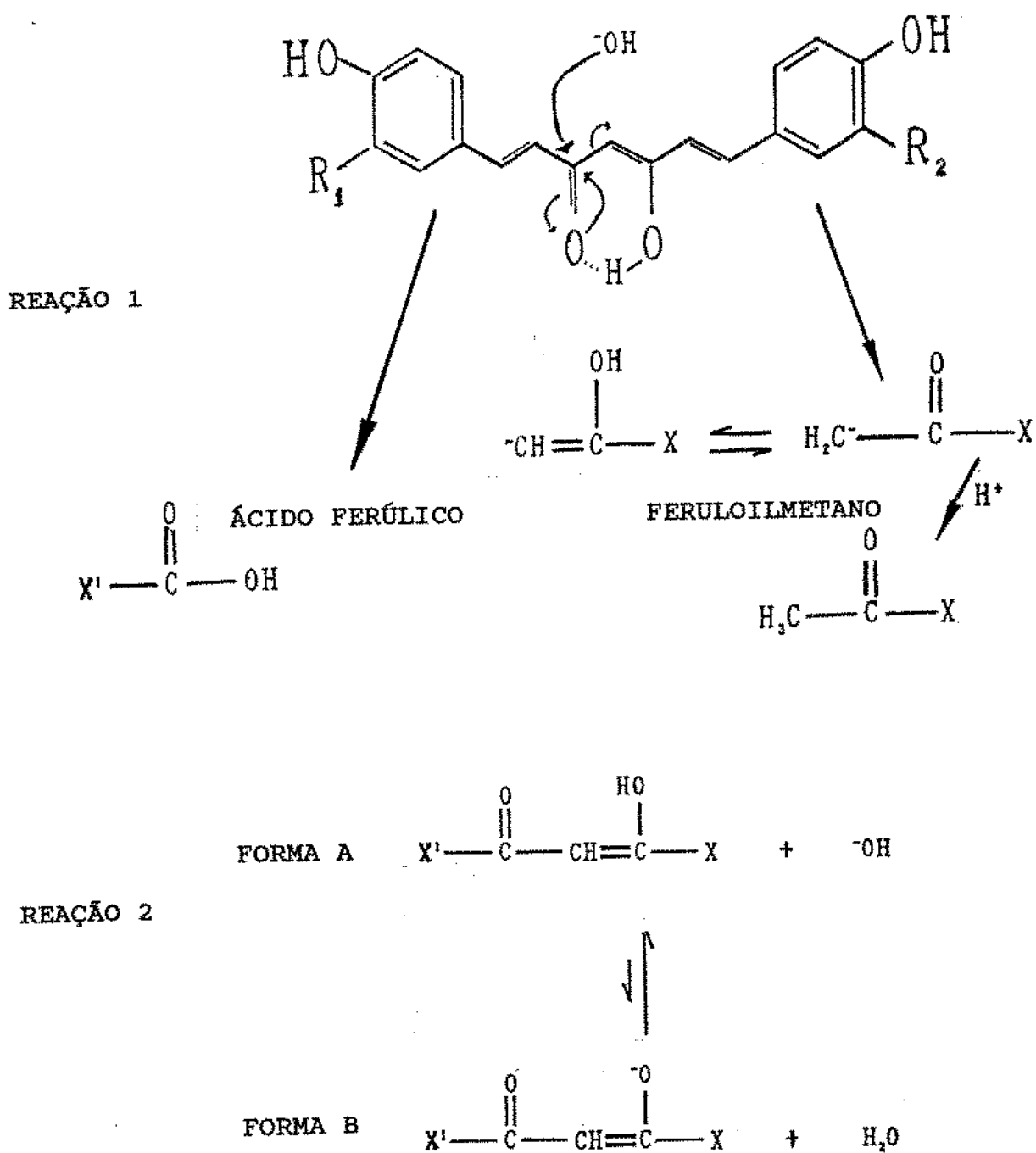


Figura 16 - Mecanismo de degradação alcalina da curcumina.

Fonte : PRICE & BUESCHER (1992).

4.4.3 - EFEITO DA LUZ

Os resultados do efeito da luz e do oxigênio presente no ar sobre o teor de curcumina, nas soluções aquosas de oleoresina de cúrcuma e cristais de curcumina, são apresentados nos ANEXOS 25 e 26.

Esses resultados foram submetidos à regressão linear e as equações que melhor descrevem os tratamentos são:

Oleoresina de cúrcuma

Escuro/ar

$$T = 31,20 - 0,1481t \text{ (t de 0 a 4 dias)}$$

$$r^2 = 0,488$$

$$T = 30,67 - 0,0145t \text{ (t de 4 a 30 dias)}$$

$$r^2 = 0,949$$

Luz/ar

$$T = 31,26 - 0,5033t \quad r^2 = 0,993$$

Escuro/N₂

$$T = 31,31 - 0,1882t \text{ (t de 0 a 4 dias)}$$

$$r^2 = 0,938$$

$$T = 30,69 - 0,0236t \text{ (t de 4 a 30 dias)}$$

$$r^2 = 0,783$$

Luz/N₂

$$T = 31,55 - 0,5234t \quad r^2 = 0,996$$

Cristais de
curcumina

Escuro/ar

$$T = 78,08 - 0,0579t \text{ (t de 7 a 30 dias)}$$

$$r^2 = 0,986$$

Luz/ar

$$T = 76,98 - 0,7613t \quad r^2 = 0,953$$

Escuro/N₂

$$T = 77,83 - 0,0462t \text{ (t de 7 a 30 dias)}$$

$$r^2 = 0,9659$$

Luz/N₂

$$T = 76,95 - 0,5793t \quad r^2 = 0,978$$

onde T = teor de curcumina (%) e t = tempo (dias)

A análise das equações mostra que a curcumina na forma de oleoresina de cúrcuma no sistema luz/ar apresentou uma taxa de degradação de 0,5033% de curcumina por dia de tratamento, enquanto no sistema luz/N₂ a degradação foi de 0,5234%. Estes valores não diferem significativamente entre si, com d.m.s. de 0,0212. Atmosfera de ar e atmosfera de N₂, em presença de luz tiveram, portanto, o mesmo comportamento na estabilidade da curcumina na forma de oleoresina.

Os sistemas escuro/ar e escuro/N₂ não apresentaram diferenças significativas entre si, tanto de 0 a 4 dias como de 4 a 30 dias, para soluções de oleoresina de cúrcuma.

Em relação à curcumina na forma de cristais, os resultados estatísticos indicam que no sistema luz/ar houve uma degradação de 0,7613% de curcumina por dia de tratamento, enquanto que sistema luz/N₂ a taxa foi de 0,5793%. Sendo a d.m.s. igual a 0,0313, a ação da luz/ar sobre a degradação da curcumina foi significativamente maior que a ação de luz/N₂.

Os sistemas escuro/ar e escuro/N₂ não apresentaram diferenças significativas entre si, de 7 a 30 dias. Entre 0 e 7 dias os dados não puderam ser relacionados linearmente, entretanto a perda de curcumina foi muito baixa, de 0,14% no sistema escuro/ar e 0,21% no sistema escuro/N₂.

A Tabela 25 mostra as perdas dos teores de curcumina na oleoresina e nos cristais de curcumina, após 30 dias de tratamento.

A Tabela 26 resume as velocidades das reações (aparentemente de primeira ordem) e o tempo de meia vida para os diversos tratamentos, obtidos a partir das equações 1 e 2 do item 3.5.5. A representação gráfica das equações se encontram nos ANEXOS 31 a 34.

As Figuras 17 e 18 apresentam as perdas de curcumina em função do tempo, para os sistemas oleoresina/luz/ar, oleoresina/luz/N₂ e curcumina/luz/ar, curcumina/luz/N₂. Conforme análise estatística descrita anteriormente, para oleoresina de

cúrcuma as perdas, em atmosfera de ar e em atmosfera inerte, não apresentaram diferenças significativas em todos os tempos de tratamento; para cristais de curcumina, a diferença nos teores de curcumina se torna mais evidente a partir de 7 dias de tratamento, para as duas atmosferas.

Os ANEXOS 27 a 30 mostram o comportamento dos espectros de absorção na região UV-visível para a curcumina submetida às condições experimentais. Não foram observadas variações no comprimento de máxima absorção e absorções em outros comprimentos de onda.

As soluções de oleoresina mantiveram a coloração amarela até o 15º dia de tratamento e, a partir daí, a solução escureceu tornando-se alaranjada. As soluções de cristais de curcumina permaneceram amarelo brilhante até o 10º dia de tratamento e, a partir daí, tornaram-se amarelo opaco.

Tabela 25 - Perda de curcumina, sob diferentes condições, após 30 dias.

Condições experimentais	Perda de curcumina	
	(%)	
OR, escuro, ar	3,60	2,45 (0 a 4 dias) 1,18 (4 a 30 dias)
OR, luz, ar	46,94	
OR, escuro, N ₂	4,68	2,64 (0 a 4 dias) 2,09 (4 a 30 dias)
OR, luz, N ₂	50,03	
C, escuro, ar	1,80	0,14 (0 a 7 dias) 1,66 (7 a 30 dias)
C, luz, ar	31,98	
C, escuro, N ₂	1,60	0,21 (0 a 7 dias) 1,38 (7 a 30 dias)
C, luz, N ₂	23,29	

OR = oleoresina de cúrcuma

C = cristais de curcumina

Tabela 26 - Constantes de velocidade de reação (K) e meia- vida ($t_{1/2}$) para degradação de curcumina em relação a luz (1200 lux).

Condições experimentais	K X 10 ⁻³ (dia ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)
OR, escuro, ar	6,21 (0 a 4 dias)	-
	0,45 (4 a 30 dias)	1540
OR, luz, ar	21,31	33
OR, escuro, N ₂	6,70 (0 a 4 dias)	-
	0,81 (4 a 30 dias)	856
OR, luz, N ₂	23,13	30
C, escuro, ar	0,73 (7 a 30 dias)	950
C, luz, ar	12,84	54
C, escuro, N ₂	0,60 (7 - 30 dias)	1155
C, luz, N ₂	8,84	78

OR = oleoresina de curcuma

C = cristais de curcumina

Da tabela 25, nota-se que a porcentagem de perda de curcumina no sistema escuro/ar foi baixa, tanto na solução de oleoresina como nas soluções de cristais, mostrando que o oxigênio presente no ar não foi significativamente ativo na degradação da curcumina. Isso é confirmado pelas análises

estatísticas, onde se conclui que não houve diferença significativa nos sistemas escuro/ar e escuro/N₂ para curcumina na forma de oleoresina e na forma purificada.

No sistema escuro/ar, a perda de curcumina foi 2 vezes maior nas soluções de oleoresina que nas soluções de cristais, após 30 dias. Para o sistema escuro/N₂ a perda foi 3 vezes maior nas soluções de oleoresina, o que indica maior estabilidade da curcumina purificada, já em condições de escuridão.

No sistema luz/ar, a perda de curcumina foi 1,5 vezes maior nas soluções de oleoresina que nas soluções de cristais purificados e a velocidade de reação foi 1,7 vezes maior para solução de oleoresina. No sistema luz/N₂ a perda de curcumina foi 2,3 vezes maior na solução de oleoresina e a velocidade da reação foi 2,6 vezes superior. Estes valores demonstram que curcumina na forma de oleoresina é menos estável à luz do que na forma purificada, tanto em atmosfera de ar como de nitrogênio.

A perda de curcumina na forma de oleoresina, após 30 dias no sistema luz/ar foi 13 vezes maior que no sistema escuro/ar. Comparando-se os valores de meia-vida, para os dois sistemas (Tabela 26), observa-se uma sobrevida 47 vezes maior para o sistema escuro/ar.

No sistema luz/N₂ a perda do pigmento na forma de oleoresina foi aproximadamente 11 vezes maior que no sistema

escuro/N₂. A sobrevida foi aproximadamente 29 vezes superior em condição de escuridão que em condição de luz.

A perda de curcumina na forma de cristais, após 30 dias foi 18 vezes superior no sistema luz/ar que no sistema escuro/ar. Comparando-se os valores de $t_{1/2}$ para curcumina nos sistemas escuro/ar e luz/ar, obtem-se uma sobrevida 18 vezes maior do pigmento em condição de escuridão. No sistema luz/N₂ a perda foi 15 vezes superior que no sistema escuro/N₂. A sobrevida foi também 15 vezes maior quando o pigmento não foi exposto à luz. A sobrevida de curcumina em cristais foi 1,4 vezes maior no sistema luz/N₂ do que no sistema luz/ar.

Resumidamente, pelos dados apresentados tem-se que o efeito da luz somado ao oxigênio, sobre a curcumina na forma de oleoresina, é o mesmo que o efeito da luz em atmosfera de nitrogênio. Para curcumina na forma de cristal, atmosfera inerte na presença de luz tem efeito protetor na estabilidade do pigmento, em relação a atmosfera de ar na presença de luz. Em todas as condições, a luz tem um considerável efeito desestabilizador sobre a curcumina, indicando a predominância de uma reação fotoquímica.

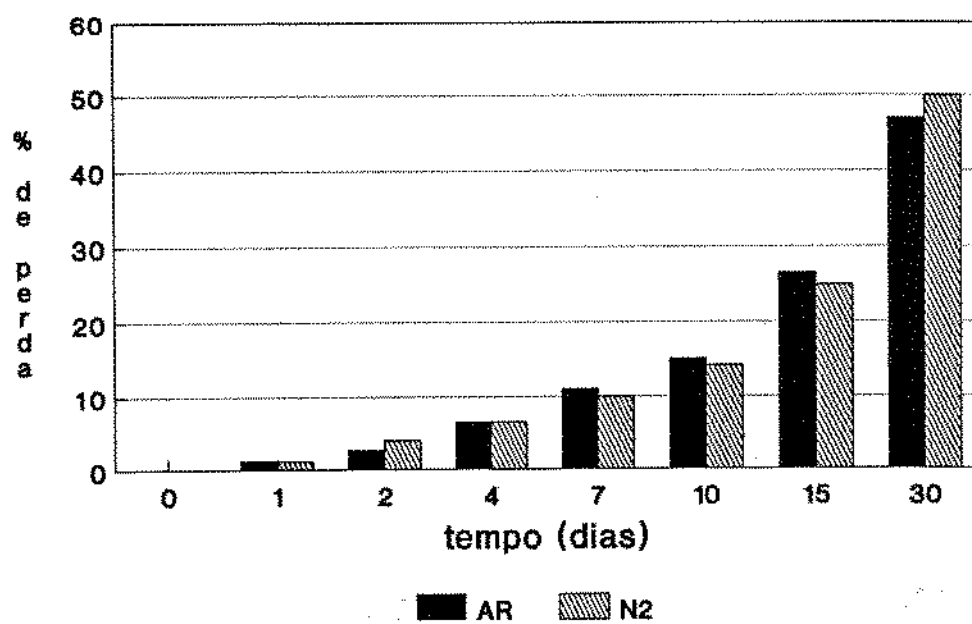


Figura 17 - Perda de curcumina em oleoresina de cúrcuma sob a ação da luz.

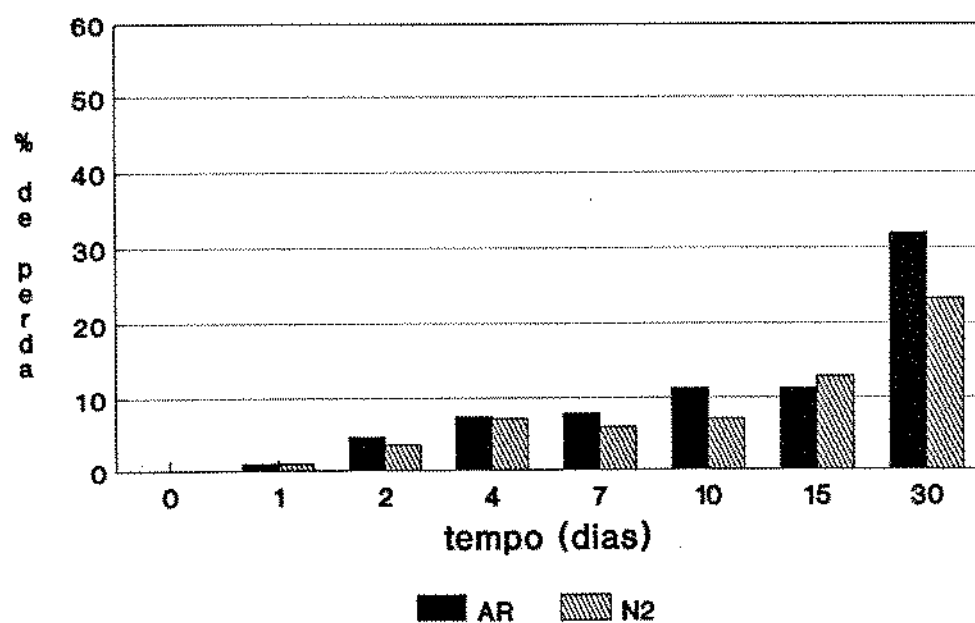


Figura 18 - Perda de curcumina em cristais de curcumina sob a ação da luz.

ABREU et alii (1992) estudaram a degradação da curcumina em sistema modelo de curcumina em celulose (1% p/p), em diversas atividades de água, na presença e/ou ausência de luz e oxigênio. Para os sistemas ar/luz e N₂/luz os valores de t_{1/2} foram de 44 e 52 dias, respectivamente, em atividade de água de 0,97. Para atividade de água de 0,86 os valores de t_{1/2}, para os dois sistemas, foram de 40 e 90 dias, respectivamente. Os autores concluíram que a curcumina é bastante estável ao ar, e que a luz foi um fator mais agressivo à curcumina que a presença de oxigênio.

PRICE & BUESCHER (1992) sugeriram um mecanismo de fotodegradação para a curcumina (Figura 5). A degradação da molécula de curcumina ocorre quando ligações simples C-C são quebradas e radicais livres são aceitos no sistema de moléculas conjugadas. A partir daí, diferentes produtos de degradação são formados. Os autores observaram que, nos sistemas utilizados, o efeito do oxigênio foi mínimo e resultou em pequenas perdas de pigmento, concluindo que a curcumina é muito mais estável ao ar que à luz. Pequenos aumentos na degradação de curcumina na presença de ar podem ser devidos à atividade antioxidante da curcumina.

Esta consideração poderia ser usada para explicar os resultados do presente trabalho, onde se observou que a curcumina purificada tem menor estabilidade ao ar que em atmosfera inerte, podendo ter ocorrido uma oxidação do pigmento. Em soluções de

oleoresina isso não ocorreu, talvez pelo efeito protetor dos óleos fixos e voláteis presentes, que foram mais susceptíveis à oxidação que a curcumina. Essas hipóteses, entretanto, só poderiam ser confirmadas com um estudo mais detalhado do mecanismo de oxidação e fotodegradação do pigmento.

V. CONCLUSÕES

1 - O teor de curcumina na variedade brasileira de cúrcuma utilizada pode ser comparado às variedades indianas com maiores teores.

2 - Dentre os solventes de extração de oleoresina de cúrcuma utilizados, a acetona foi considerado o solvente mais apropriado, na proporção de cúrcuma em pó e solvente de 1:6 e extração à temperatura de refluxo do solvente, por 90 minutos.

3 - Na purificação de oleoresina de cúrcuma por extração, a eliminação dos princípios oleosos da cúrcuma em pó com éter de petróleo e hexano, sucessivamente e, a seguir, extração do pigmento com acetona foi o método que forneceu maiores teores de curcumina e maior facilidade operacional.

4 - Dentre os métodos de purificação por cristalização testados, os que proporcionaram maiores rendimentos e maior facilidade operacional foram aqueles baseados em cristalização da curcumina em etanol a -8°C .

5 - Curcumina na forma de oleoresina de cúrcuma e na forma de cristais é pouco sensível a aquecimentos prolongados, principalmente até 100°C . Temperaturas mais altas provocam efeito destrutivo mais rápido do pigmento.

6 - Para oleoresina de cúrcuma e cristais de curcumina estocados a 7°C, a maior estabilidade do pigmento se encontra entre pH 5 e 7. A 37°C, a faixa mais estável se encontra em pH 4 a 6.

7 - A curcumina purificada se mostrou mais estável à variação do pH que a oleoresina de cúrcuma. O efeito de temperatura e pH, combinados, se mostrou mais destrutivo que quando as soluções são mantidas em baixa temperatura.

8 - Para oleoresina de cúrcuma, o efeito combinado de luz e ar foi similar ao efeito de luz e nitrogênio, portanto o oxigênio não foi ativo na degradação da curcumina. A luz, na presença ou ausência de ar, teve considerável efeito destrutivo sobre a curcumina.

9 - Para cristais de curcumina o efeito de luz e ar foi mais destrutivo que luz e nitrogênio. A presença de oxigênio do ar não afetou a perda do pigmento tanto quanto a luz.

10 - Curcumina purificada se mostrou mais estável à luz que curcumina na forma de oleoresina de cúrcuma, tanto na presença como na ausência de ar.

PESQUISA COMPLEMENTAR

1 - Desenvolvimento de formulações de oleoresina de cúrcuma solúveis em água, permitindo utilização em diversos alimentos e bebidas.

2 - Estudo da estabilidade da cor da oleoresina e curcumina purificada, quando empregadas em alimentos, e comparação dos resultados com os obtidos no presente trabalho, que utilizou soluções aquosas na avaliação da estabilidade do pigmento.

3 - Desenvolvimento de oleoresina de cúrcuma ou curcumina solubilizada e encapsulada por "spray drying", permitindo maior aplicação em alimentos e maior proteção em relação à luz.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABEA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHEIROS DE ALIMENTOS) REGIONAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. *Aplicação tecnológica de aditivos e nutrientes em alimentos*. São Paulo. 1984. 111p.
2. ABREU, C.R.; SILVA, J.T.; GLORIA, M.B.A. - Influência da atividade de água, luz e oxigênio na estabilidade de curcumina em sistema modelo. I. CONGRESSO BRASILEIRO DE CORANTES NATURAIS. 31 ago.- 4 set. 1992.
3. ALEMANHA. Pat.2.924.345. D.W. Dyrssen. *Dry curcuma extract from Rhizoma Curcuma longa and the curcuma essential oil obtained from it*. Jan. 08, 1981. citado por : CHEM. ABSTR., 95: P109.341d, 1981.
4. ALEMANHA. Pat.2.348.004. P.G. Quesnel & A. Lambrow. *Aromatic oleoresin emulsion*. citado por CHEM. ABSTR., 81:P134856, 1974.
5. ANDRES. C. - Natural food colors/blends in expanded range of hues. *Food Proc.* 42 (12): 52, 1981.
6. AUSLANDER, M.; GOLDBERG, M.; HILL, J.A.; WEISS, A.L. - Naturally occurring colorants, a stability evaluation. *Drug Cosmetic Ind.* 121 (6). 55-60, 1977.

7. BRAVANISHANKAR, T.N. & MURTHY, S.V. - Reproductive response of rats fed turmeric (*Curcuma longa* L.) and its alcoholic extract. *J. Food Sci. Technol.* **24**: 45-48, 1987.
8. BRASIL - Ministério da Saúde. Decreto Nº 55.871 de 1965. Resolução Nº 4 de 24 de novembro de 1988, do Conselho Nacional de Saúde. Regulamenta o uso de aditivos intencionais em alimentos.
9. CHINA. Pat. 87.101.355. L. ZHANG & Z. YANG. *Extraction of curcumine from rhizome Curcumas longae*. Oct. 12, 1989. citado por: CHEM. ABSTR., 111: 231032p, 1989.
10. CIAMICIAN, G. & SILBER, P. - Zur Kenntniss des Curcumins. *Ber. Deut. Chem. Gesell.* **30**: 192-195, 1887.
11. CORREA, M.P. Açafrão. In: *Dicionário de plantas úteis do Brasil*. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal Rio de Janeiro, 1975. v.1, p.21-22.
12. CREDER, H. - *Instalações elétricas*. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A.; São Paulo, 1966. 328 p.
13. DAUBE, F.W. - Ueber Curcumin, den Farbstoff der Curcuma Wurzel. *Ber. Deut. Chem. Gesell.* **3**: 609- 613, 1870.
14. DONALISIO, M.G. - Instruções para o cultivo de cúrcuma. O

Agrônomo, Campinas 32: 171-175, 1980.

15. ESTADO DE SÃO PAULO. Decreto Nº 10.295 de 1939. Regulamenta o uso de substâncias corantes.
16. ESTADO DE SÃO PAULO. Norma Técnica de Alimentos Nº 70 Decreto Nº 12.486 de 20 de Outubro de 1978. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.
17. EUA Pat. 4.138.212. C.E. Stransky. *Process for producing water and oil soluble curcumin coloring agents*. Feb. 6, 1979.
18. EUA. Pat. 4,368,208. J.L. Schranz. Mc Cormick & Company Inc. *Water-soluble curcumin complex*. Jan. 11, 1983.
19. EUA. Pat. 4,163,803. K. J. Goldscher. *Turmeric coloring process and composition for foods and beverages*. July 19, 1978.
20. EUA. Pat. 3,340,250. L. Sair & L. Klee, The Griffith Laboratories Inc. *Extracting values from turmeric*. Sept. 5, 1967.
21. FPCNAS (FOOD PROTECTION COMMITTEE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES) *Chemicals used in food processing*. Washington, D.C., 1965. 294p. (Publication 1274).

22. FRANCIS, F.J. - *Handbook of food colorants patents*. Food & Nutrition Press Inc; New York, 1986. 181p.
23. FREUND, R.P.; WASHAW, J.C.; MAGGION, M. - Natural color for use in foods. *Cereal Foods World* 33(7): 553-556, 1988.
24. GEORGE, K.M.; BALAKRISHNAN, K.V.; CHANDRAN, C.V.; NARAYANA PILLAI, O.G.; VERGHESE, J. -On the extraction of oleoresin from turmeric. *Indian Spices* 18(2/4): 7-9, 1981.
25. GHATAK, G. & BOSU, N.-Sodium curcuminates as an effective anti-inflammatory agent. *Indian J. Exper. Biol.* 10: 235-239, 1972.
26. GOODPASTURE, G.E. & ARRHIGI, F.E.-Effects of food seasonings on the cell cycle and chromosome morphology of mammalian cells in vitro special reference to turmeric. *Food Cosmetic Toxicol.* 14(1): 9-13, 1976.
27. GOVINDARAJAN, V. S. - Turmeric - chemistry, technology and quality. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 12(3): 199-301, 1980.
28. GUENTHER, E. - *The essential oils*. Van Nostrand Reinhold; New York, v. 5, 1952. 507p.
29. JACKSON, C.L. - Über Curcumin. *Ber. Deut. Chem. Gesell.*

14: 485-487, 1881.

30. JACOB, C.V. & VERGHESE, J.- ASTA method of curcumin evaluation.
Indian Spices 18: 21, 1981.

31. JACOBS, M. B. - *The chemical analysis of foods and food products*. 3rd ed. New York. Van Nostrand Reinhold Company, 1958. 970p.

32. JANAKI, N. & BOSE, J.L.- An improved method for the isolation of curcumin from turmeric. *J. Indian Chem. Soc.* 44(11): 985-986, 1967.

33. JANBEN, A. & GOLE, T. - Thin-layer chromatographic determination of curcumin (turmeric) in spices. *Chromatographia* 18(10): 546-549. 1984.

34. JENTZSCH, K.; SPIEGL, P.; KAMITZ, R. - Qualitative und quantitative Untersuchungen über Curcuma Farbstoffe in verschiedenen Zingiberaceendrogen. 2. Teil. Quantitative Untersuchungen. *Sci. Pharm.* 38(1): 50-58, 1970.

35. KARASZ, A.B. & BOSCUS, L. - Detection of turmeric in foods by rapid fluorometric method and by improved spot test. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 56: 626-630, 1973.

36. KHALIQUE, A & DAS, N.R. - Examination of *Curcuma longa* L. Part
139

II, Constituents of the essential oil. *Sci. Res.* 5: 44-49, 1968.

37. KRISHNASWAMY, M.A.; PATEL, J. D.; PARTHASARATHY, N. - Enumeration of microorganisms in spices and spice mixtures *J. Food Sci. Technol.* 8(4): 191-195, 1971.
38. KRISHNAMURTHY, N.; PADMAIAI, R.; NATARAJAN, C.P.; KUPPUSWAMY, S. - Colours content of turmeric varieties and studies on its processing. *J. Food Sci. Technol.* 12(1):12-14, 1975.
39. KRISHNAMURTHY, N.; MATHEW, A.G.; NAMBU DIRI, E.S.; SHIVA SHANKAR, S.; LEWIS, Y.S.; NATARAJAN, C.P. - Oil and oleoresin of turmeric. *Trop. Sci.* 18 (1)37-45, 1976.
40. LEACH, A.E. - Composition of turmeric. *J. Amer. Chem. Soc.* 26: 1210-1211, 1904.
41. LEHMAN, G., GERHARDT, V. & COLLET, P. - Beitrage Zur Analytic von Farbstoffen. XII. Nachweis synthetischer und Curcuma-Farbstoffe in Speisesenf. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* 144(6): 345-348, 1971.
42. MANGALAKUMARY, C.K. & MATHEU, A.G. - Localisation of significant constituents of turmeric. *J. Food Sci. Technol.* 23: 93-96, 1986.

43. MATHAI, C.K. - The pattern of rhizome yield and their accumulation of commercially important chemical constituents in turmeric (*Curcuma Spices*) during growth and development. *Qual. Plant- Plant Foods Hum. Nutr.* 28(3): 219-225, 1979.
44. MATHAI, C.K. - Variability in turmeric (*Curcuma especies*) germplasm for essential oil and curcumin. *Qual. Plant - Plant Foods Hum. Nutr.* 25(3/4): 227-230, 1976.
45. MATTADA, R. R.; SANKARAN, R.; THANGAMANI, J.; RAMANATHAN, L.A. - Control of microbial contamination spices. *Indian J. Microbiol.* 14(3): 139-143, 1974.
46. MAYER, F. Turmeric. In: *The chemistry of natural coloring matters*. Reinhold Publishing Corporation; New York, 1943, p.93.
47. MILLIPORE INDUSTRIA E COMERCIO LTDA - Divisão Waters. *Tabela para uso de solventes*. Folheto Técnico.
48. PABON, H.J.J. - Synthesis of curcumin and related compounds. *Rec. Trav. Chim. Pays - Bas.* 83: 379-386, 1964.
49. PARRY, J.W. Turmeric. In: *Spices: morphology. histology and chemistry*. Chemical Publishing Corporation; New York, v.2, 1969. p. 74-78, 211-212.

50. PARRY, J.W. *Turmeric*. In: *The spices described*. Chemical Publishing Corporation; New York, v. 1, 1969. p. 219-221.
51. PEREIRA, H. - *Açafrão*. In: *Dicionário de plantas úteis do Estado de São Paulo*. Typographia Brasil de Rothschild & Co.; São Paulo, 1926. p. 22-23.
52. PERKIN, A.G. & SAMUEL, P.-The molecular weights of hesperitin and curcumin. *J. Chem. Soc.* 85: 62-64, 1904.
53. PEROTTI, A.G.- Curcumin - an useful vegetable colour not much well-known. *Industr. Alim.* 14(6): 66-68, 1975.
54. PRASAD, J. & SINGH, A. - Processing of turmeric. *Fiji Agric. J.* 42(2): 23-25, 1980.
55. PRICE, L.C. & BUESCHER, R.W. - Turmeric pigments stability characteristics and reaction mechanism of photooxidation and alkaline degradation. ANNUAL MEETING OF FOOD EXPOSITION. New Orleans, jun, 20-24, 1992.
56. RAGHUVeer, G.K. & GOVINDARAJAN, S.V. - Detection of admixture of turmeric, *Curcuma longa* L, with *Curcuma aromatica* Salisb. by thin-layer-chromatography. *J. Assoc. off Anal. Chem.* 62: 1333-1337, 1979.
57. RAJARAMAN, K.; NARAYANAN, C. S.; SUMATHYKUTTY, M. A.;

SANKARIKUTTY, B.; MATHEW, A.G. - Ethyl acetate as a solvent for extraction of spice oleoresin. *J. Food Sci. Technol.* 13(3): 101-103, 1981.

58. RAMPRASAD, C. & SIRSI, M. - Observations on the pharmacology of *C. longa* L. - Pharmacodynamic and toxicological studies of sodium curcumin. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 1: 136-140, 1957.

59. RIMPLER, H.; HAENSEL, R.; KOCHENDOERFER, L. - Xanthorrhizol, ein neues sesquiterpen aus *Curcuma xanthorrhiza*. *Z. Naturforsch.* 25(9), 995-998, 1970.

60. ROUSEF, L.R. - High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in turmeric and annatto. *J. Food Sci.* 53(6): 1823-1826, 1988.

61. RUPE, H. - Über Curcumaol. *Ber. Deut. Chem. Gesell.* 40: 4909-4910, 1970.

62. SAMPATHU, S.R.; KRISHNAMURTHY, N.; SOWBHAGYA, H.B.; SHANKARA NARAYANA, M.L. - Studies on quality of turmeric in relation to curing methods. *J. Food Sci. Technol.* 25(3): 152-155; 1988.

63. SRINAVASAN, K.R. - Chromatographic study of the curcuminoids

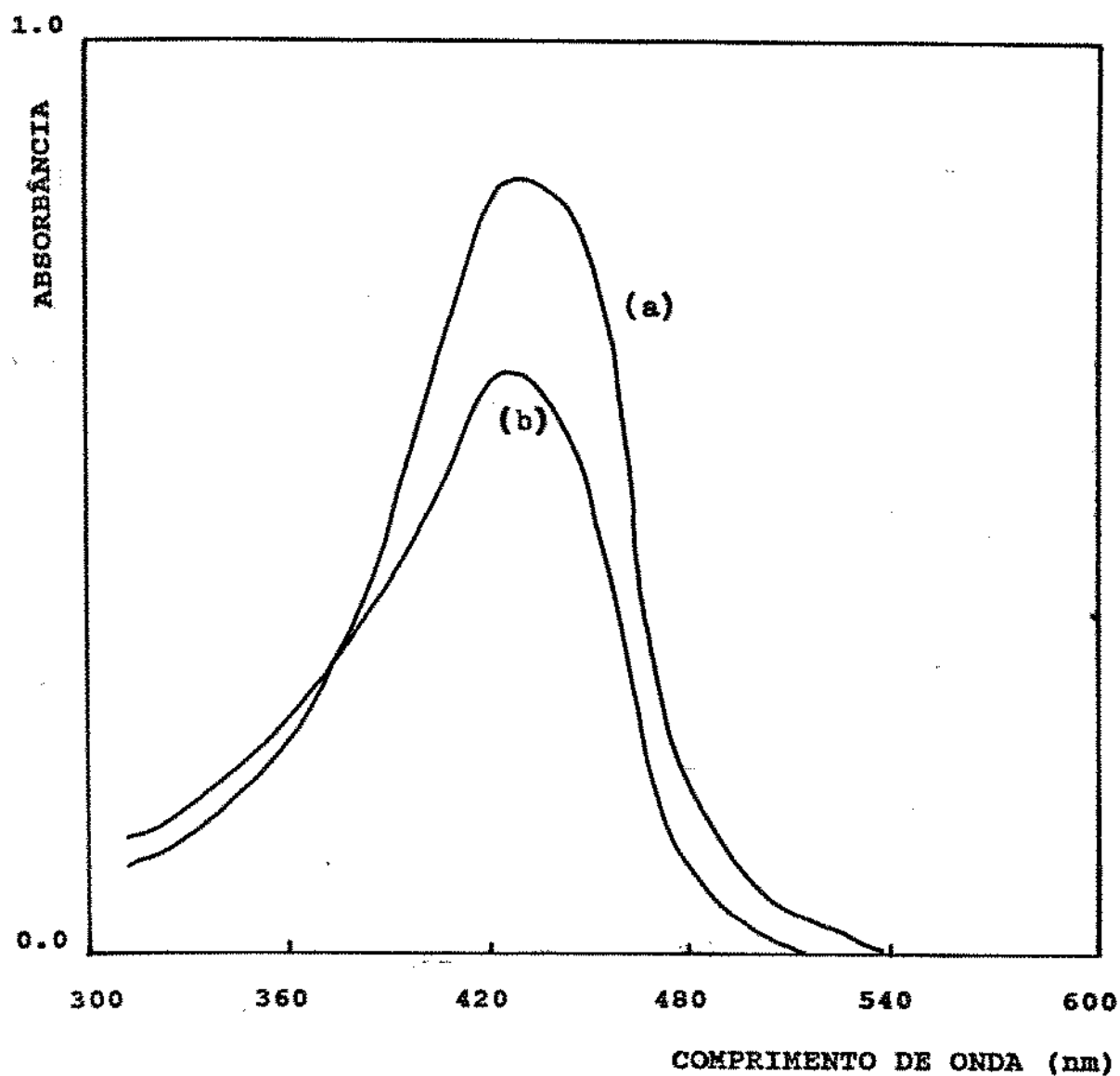
in *Curcuma longa* L.. *J. Pharm. Pharmacol.* 5: 448-457, 1953.

64. TAKAHASHI, M.Y. - Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de qualidade e identidade, 1ª ed., Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1984. 33p.
65. TAKAHASHI, M.Y. - Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de qualidade e identidade 2ª ed., Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1987. 118p
66. TEIXEIRA NETO, R.O.; VITALI, A.A.; QUAST, D.G. - Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. Campinas, Ital, 1991. 36p.
67. TONNESEN, H. H. & KARLSEN, J. - High performance liquid chromatography of curcumin and related compounds. *J. Chromatogr.* 259: 367-371, 1983.
68. TONNESEN, H.H. & KARLSEN, J. - Studies on curcumin and curcuminoids. V. Alkaline degradation of curcumin. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* 180(2): 132-134, 1985.
69. TONNESEN, H.H. & KARLSEN, J. - Studies on curcumin and curcuminoids. VI. Kinetics of curcumin degradation in aqueous solution. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* 180(5): 402-404, 1985.

70. VERGHESE, J. - Isolation of the coloring matter from dried turmeric (*Curcuma longa* L.) with ethyl acetate. *Flavour Fragrance J.* 4(1): 31-32, 1989. citado por: CHEM. ABSTR. 111:56033r, 1989.
71. VERGHESE, J. - On the retrieval of pigments from turmeric. *Indian Spices* 21 (3):12-17, 1984.
72. WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). - Evaluation of certain food additives. Rome, 1974. 40p. (FAO Nutrit. Meet. Rpt. 54).
73. WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). - Specification for identity and purity of certain food additives. Rome, 1986. 152p. (Food Nutrit. Paper 37).
74. WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). - Specifications for the identity and purity of some extraction solvents and certain others substances. Geneva, 1961, 37p. (WHO Food Addit. Ser. v.7 Nº 40)
75. WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). - Specifications for the identity of some food colors, flavor enhancers, thickening agents and certain food additives. Geneva, 1976, 46p. (WHO Food Addit. Ser. v.7, Nº 75).

ANEXOS.....

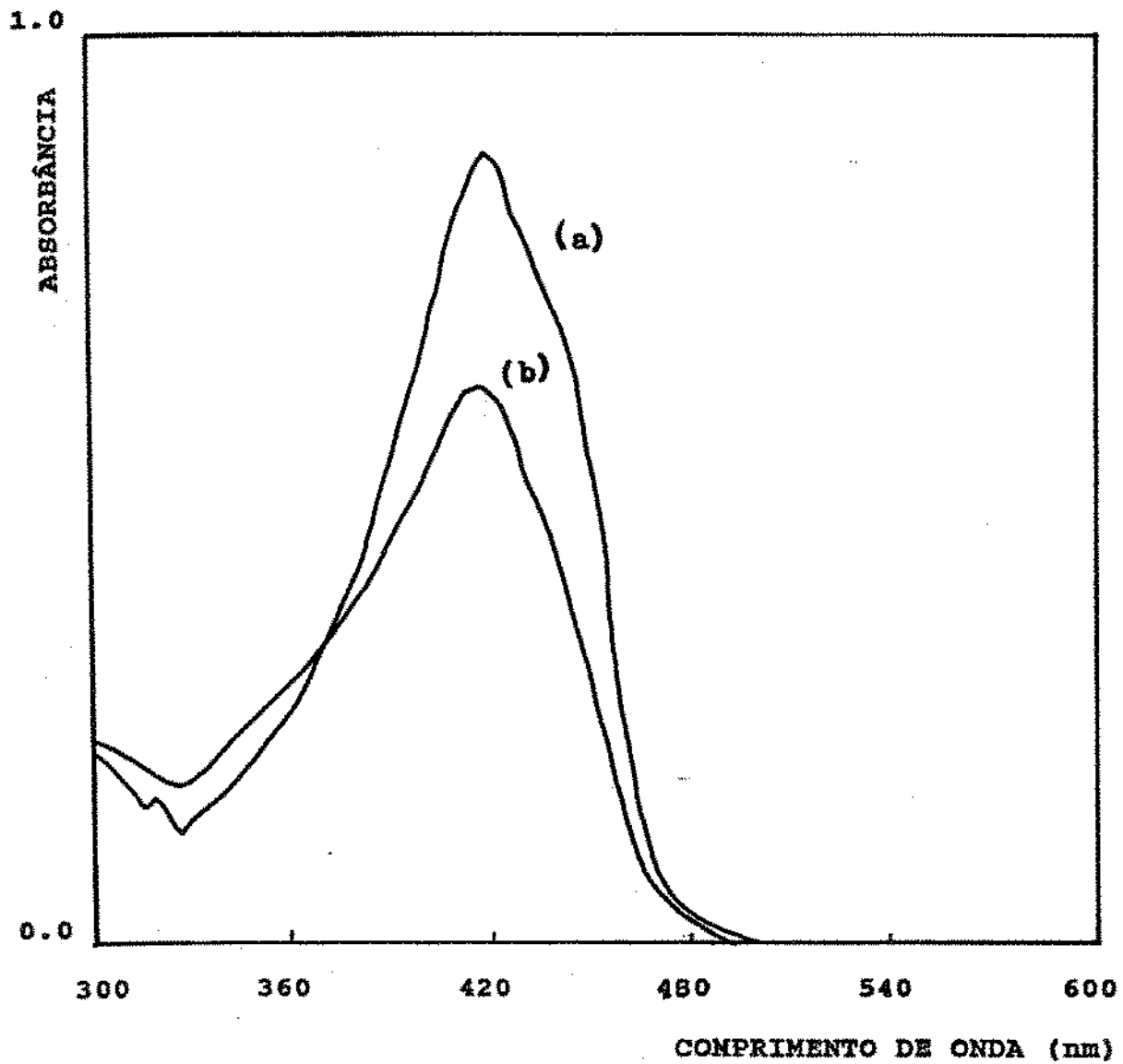
ANEXO 1



(a) Espectro de solução de curcumina em etanol (5,34mg/1000mL).

(b) Espectro de solução de oleoresina de cúrcuma em etanol (3,82 mg/1000 mL).

ANEXO 2



(a) Espectro de solução de curcumina em acetona (5,38mg/1000mL).

(b) Espectro de solução de oleoresina de cúrcuma em acetona (3,91 mg/mL).

ANEXO 3

Teores médios de curcumina em oleoresina de cúrcuma submetida a tratamento térmico, por 180 minutos.

	Temperatura (°C)			
	50	75	100	125
Tempo (minutos)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	33,29*	33,40*	33,52*	33,32*
5	33,19	33,18	33,53	31,11
15	32,59	33,49	33,44	30,95
30	32,50	33,39	33,14	30,80
60	33,07	33,44	32,81	29,77
120	32,73	32,70	32,86	29,00
180	32,53	32,54	32,25	28,24

* teor inicial de curcumina na oleoresina de cúrcuma usada na preparação das soluções

ANEXO 4

Teores médios de curcumina em cristais de curcumina submetidos a tratamento térmico por 180 minutos.

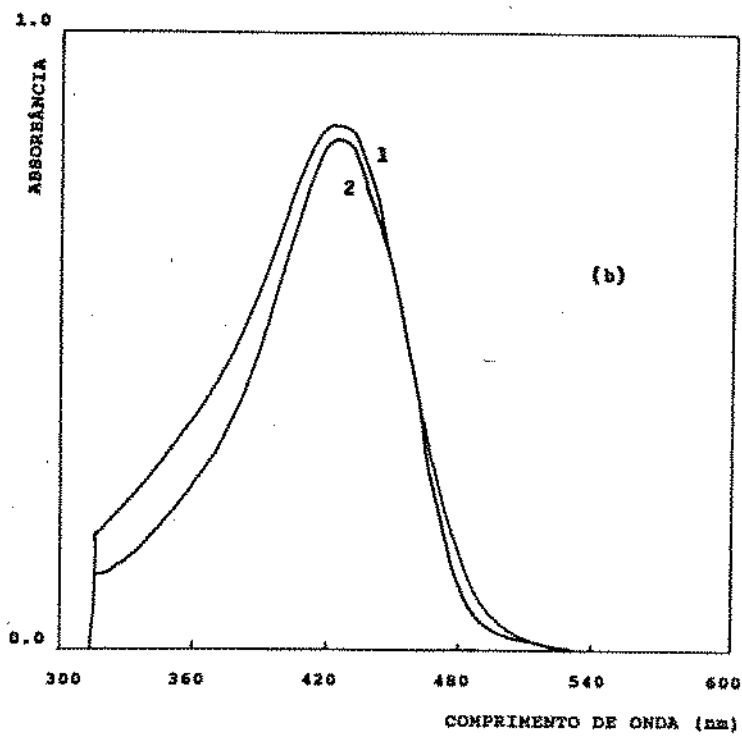
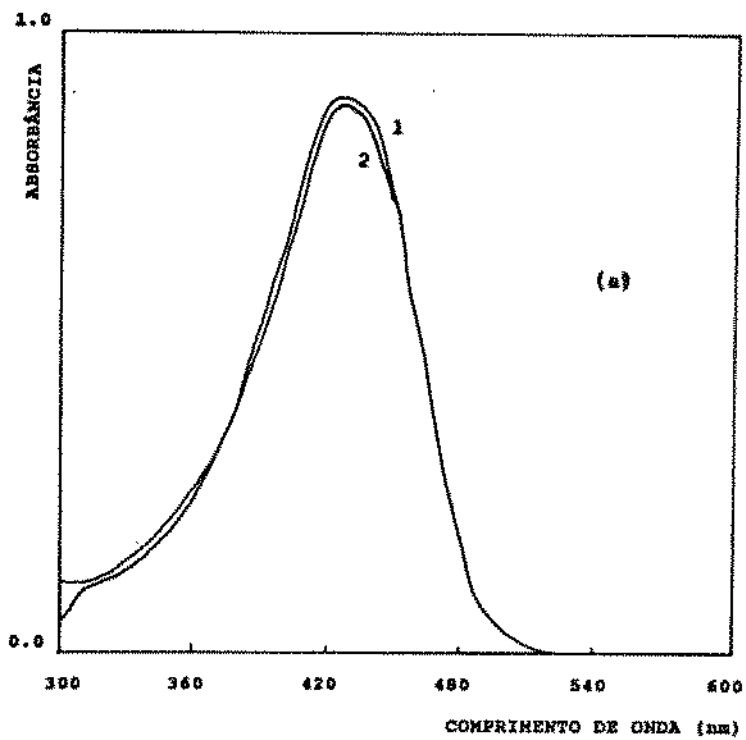
	Temperatura (°C)			
	50	75	100	125
Tempo (minutos)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	77,19*	79,72*	75,47*	76,37*
5	76,42	77,84	74,80	73,31
15	76,85	77,98	74,06	71,73
30	77,22	78,58	73,42	70,75
60	75,53	77,77	73,91	68,63
120	75,44	77,05	73,07	67,47
180	75,02	76,18	71,83	63,81

* teor de inicial curcumina nos cristais usados na preparação das soluções

Teor de curcumina (%) = $\frac{\text{absorbância} \times \text{fator de diluição}}{\text{massa da amostra (g)} \times \text{absortividade}}$

Onde: absortividade = 1607

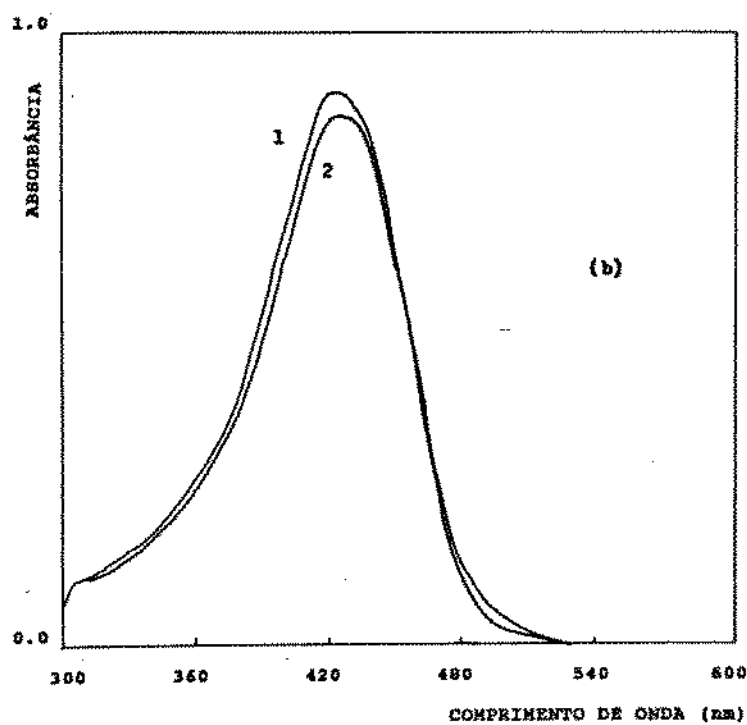
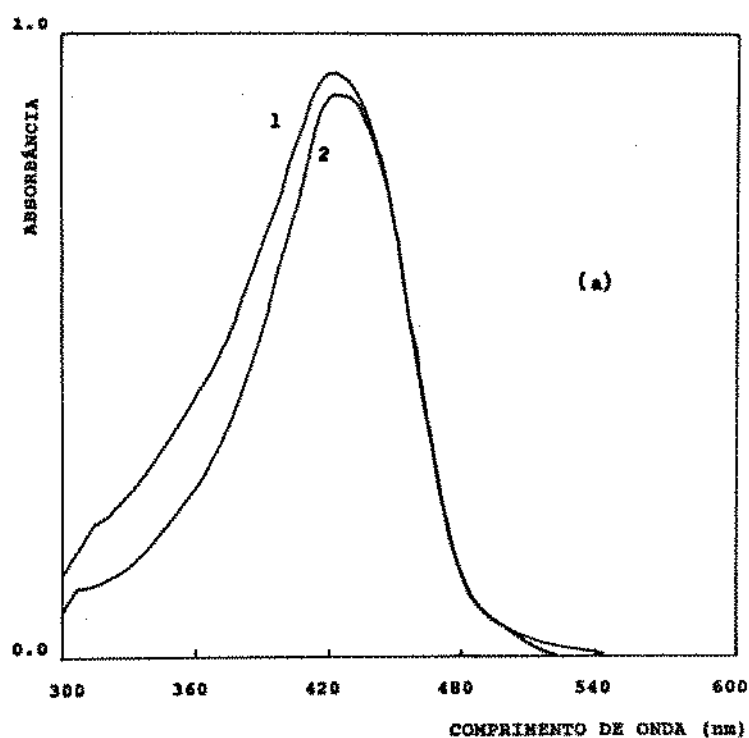
ANEXO 5



Curva 1 - 0 hora de reação
Curva 2 - 3 horas de reação

Espectros de absorção de soluções de oleoresina de cúrcuma (a) e cristais de curcumina (b), a 50 °C.

ANEXO 6

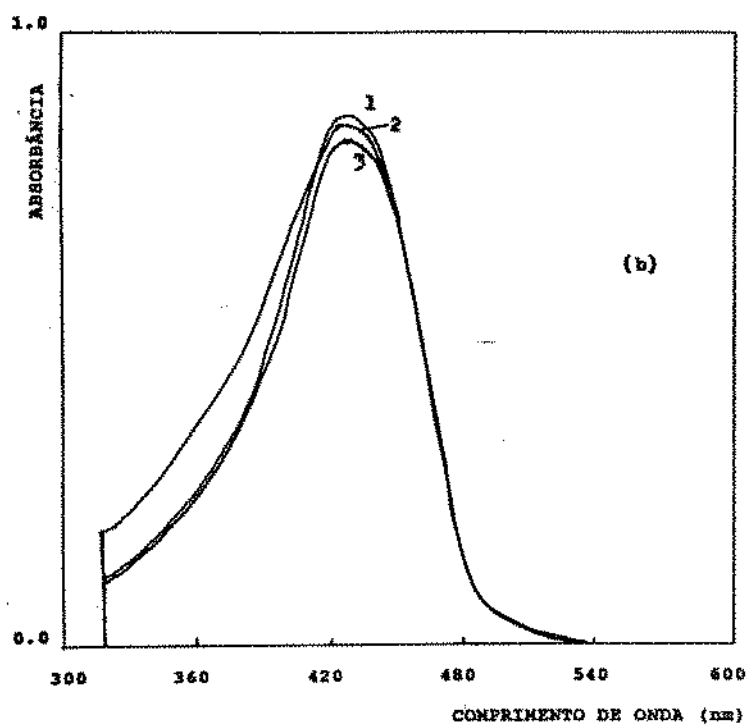
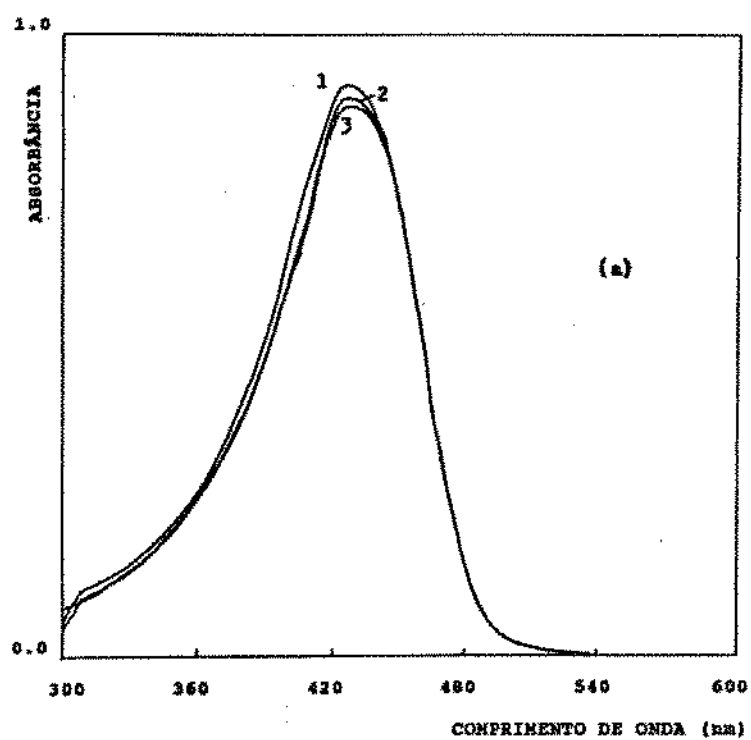


Curva 1 - 0 hora de reação

Curva 2 - 3 horas de reação

Espectros de absorção de solução de oleoresina de cúrcuma (a) e
cristais de curcumina (b), a 75 °C.

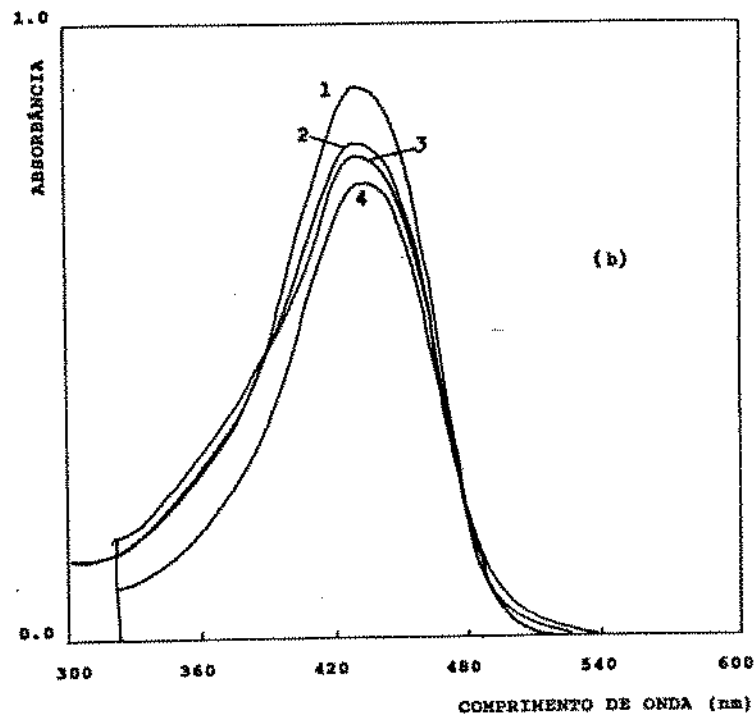
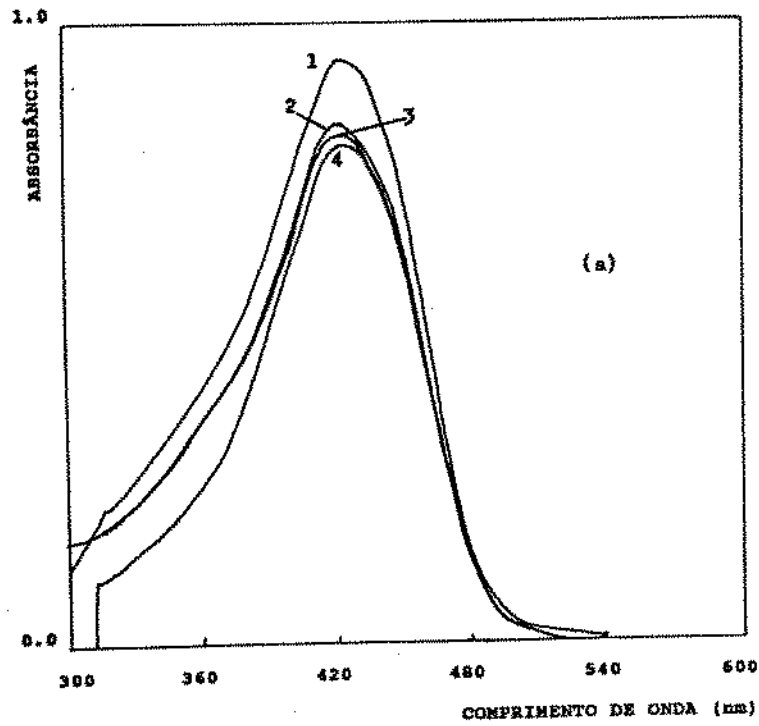
ANEXO 7



Curva 1 - 0 hora de reação
 Curva 2 - 1 hora de reação
 Curva 3 - 3 horas de reação

Espectros de absorção de soluções de oleoresina de cúrcuma (a) e cristais de curcumina (b), a 100 °C.

ANEXO 8

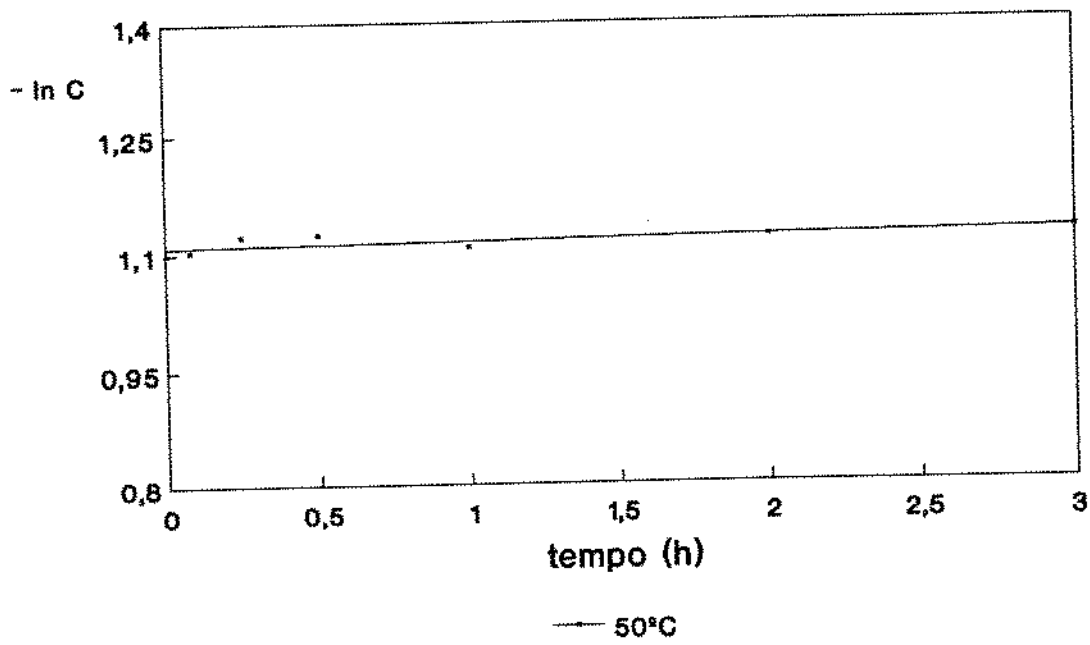


Curva 1 - 0 hora de reação
Curva 3 - 2 horas de reação

Curva 2 - 1 horas de reação
Curva 4 - 3 horas de reação

Espectros de absorção de soluções de oleoresina de cúrcuma (a) e cristais de curcumina (b), a 125 °C.

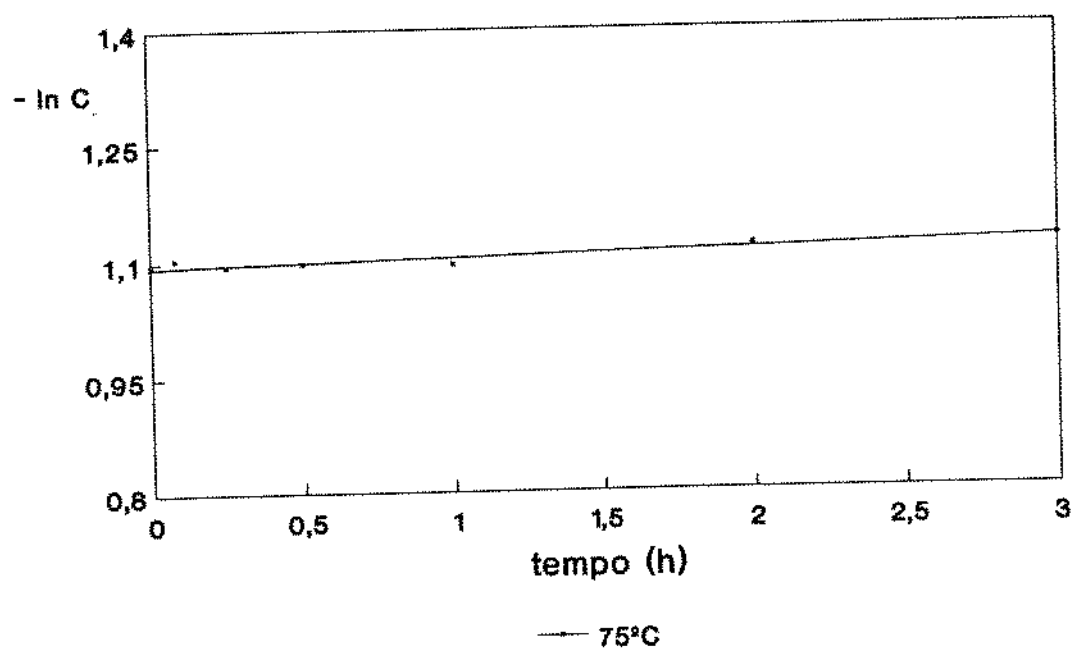
ANEXO 9



$$- \ln C = 1,1083 + 0,0048t \quad r^2 = 0,2786$$

Regressão linear da concentração de curcumina em oleoresina de cúrcuma pelo tempo de tratamento, a 50 °C.

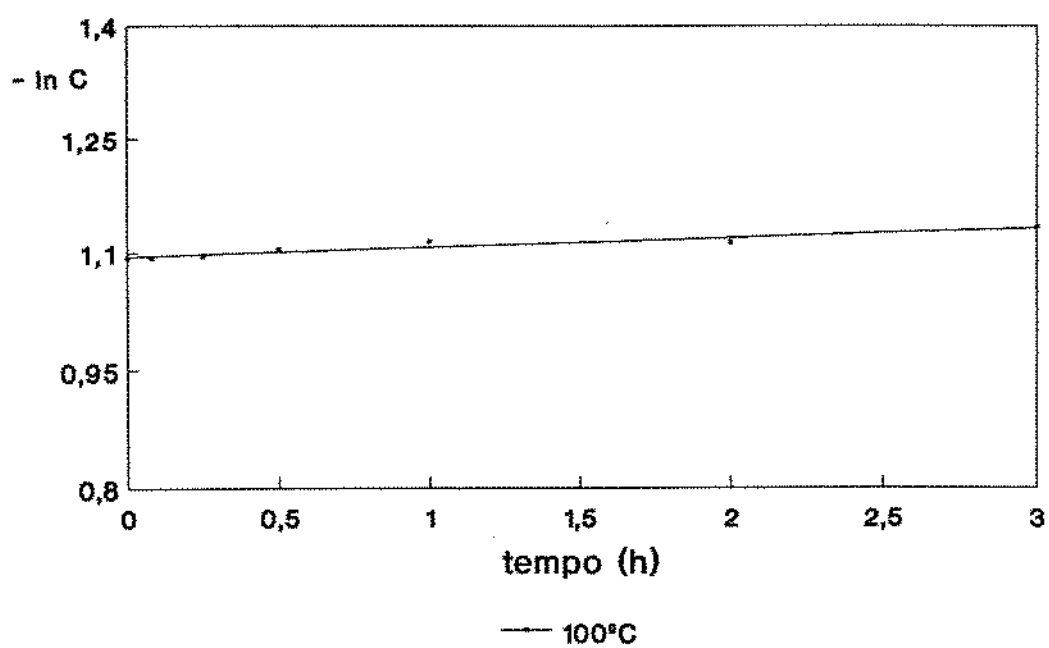
ANEXO 10



$$- \ln C = 1,0943 + 0,0095t \quad r^2 = 0,7989$$

Regressão linear da concentração de curcumina em oleoresina de cúrcuma pelo tempo de tratamento, a 75 °C.

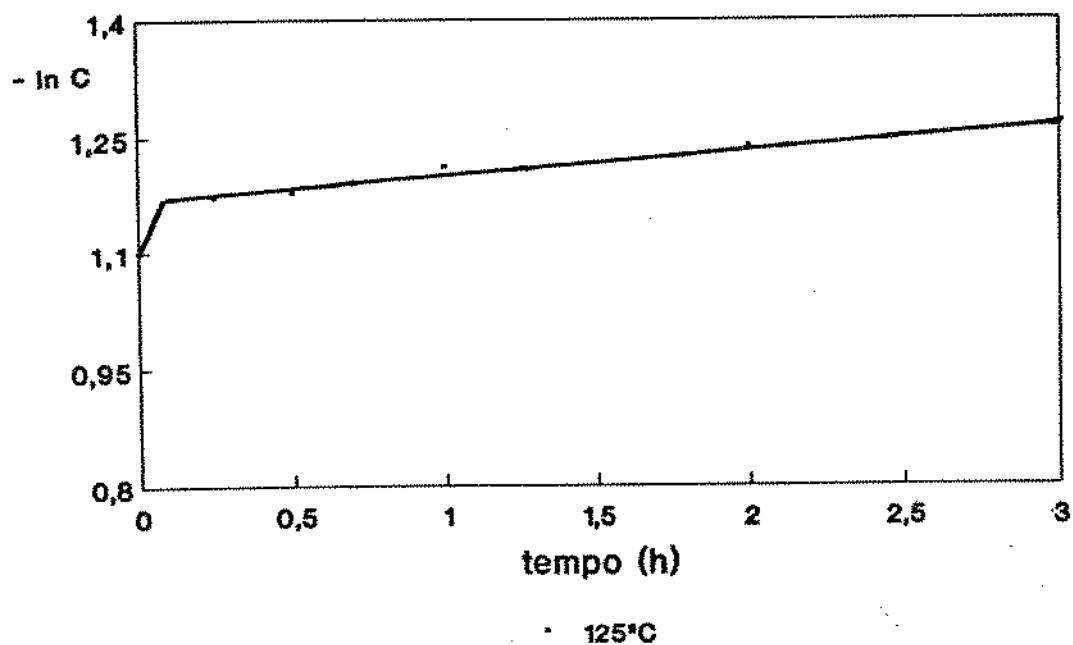
ANEXO 11



$$- \ln C = 1,0944 + 0,0122t \quad r^2 = 0,9079$$

Regressão linear da concentração de curcumina em oleoresina de cúrcuma pelo tempo de tratamento, a 100 °C.

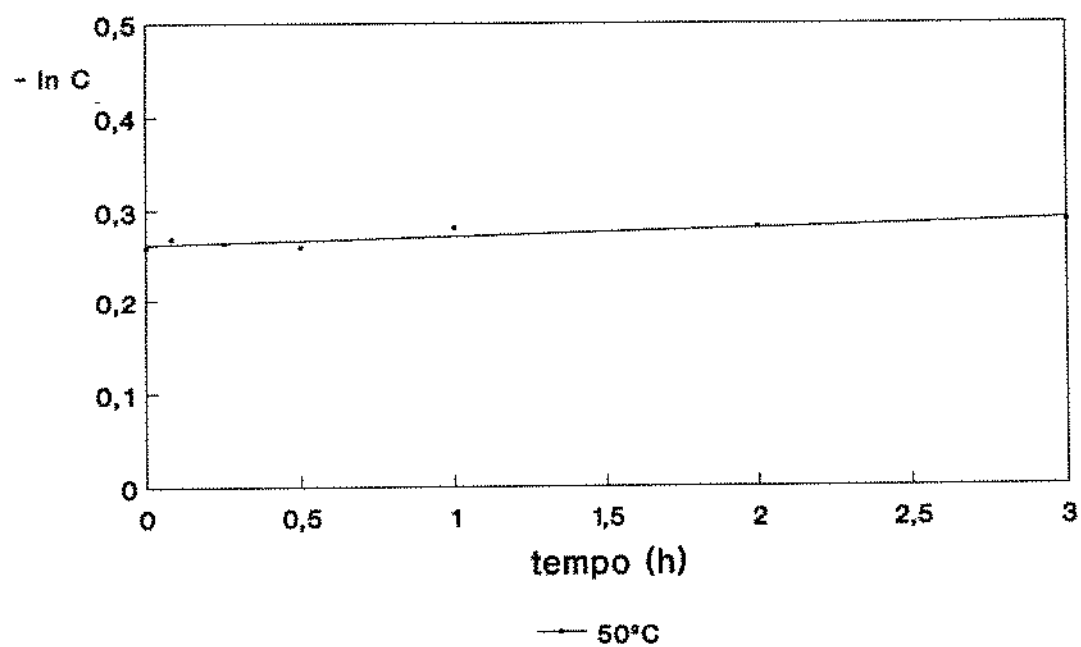
ANEXO 12



$$-\ln C = 1,1690 - 0,0280t \quad (t \text{ de } 5 \text{ a } 180 \text{ min}) \quad r^2 = 0,9205$$

Regressão linear da concentração de curcumina em oleoresina de cúrcuma pelo tempo de tratamento, a 125°C .

ANEXO 13

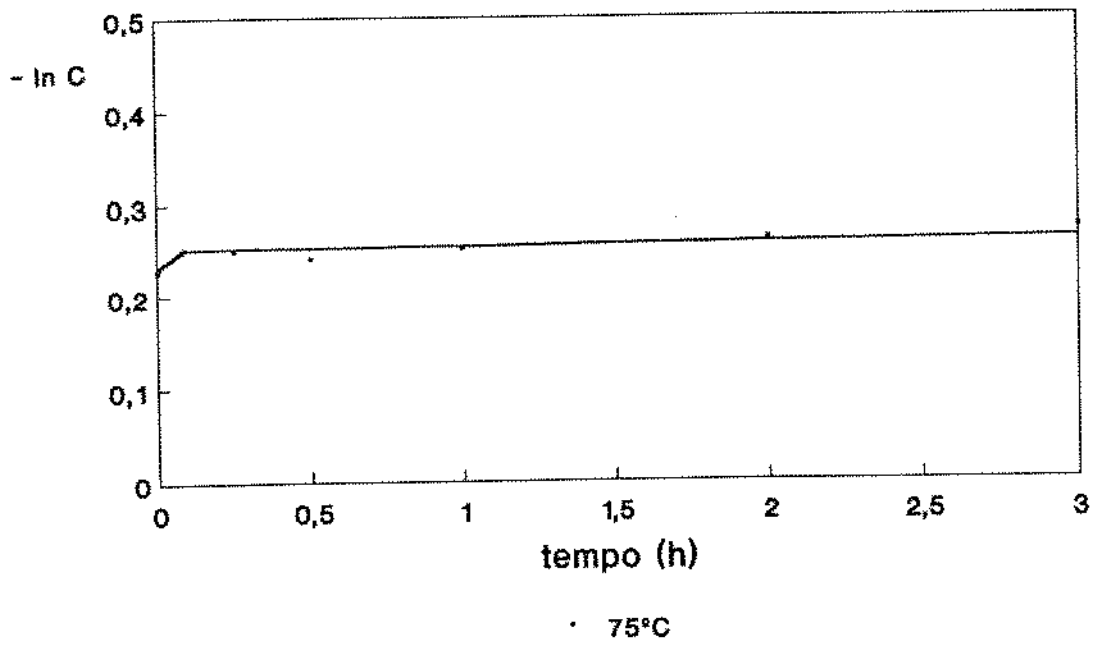


$$- \ln C = 0,2626 + 0,0090t$$

$$r^2 = 0,7459$$

Regressão linear da concentração de curcumina em cristais de curcumina pelo tempo de tratamento, a 50 °C.

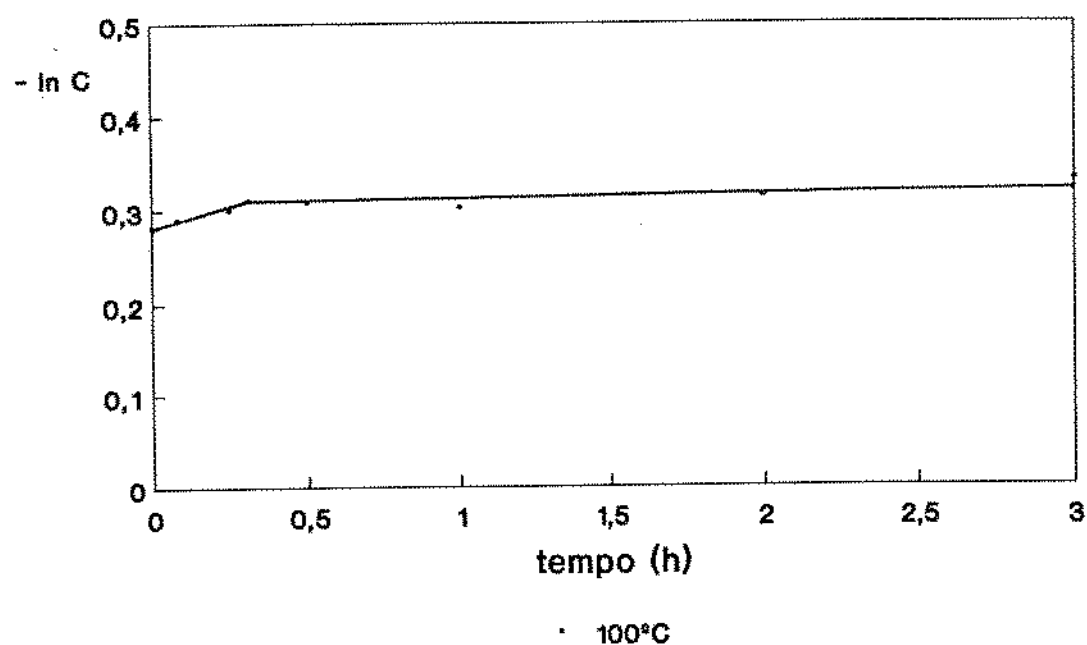
ANEXO 14



$$- \ln C = 0,2441 - 0,0087t \text{ (t de 5 a 180 min)} \quad r^2 = 0,8366$$

Regressão linear da concentração de curcumina em cristais de curcumina pelo tempo de tratamento, a 75 °C.

ANEXO 15

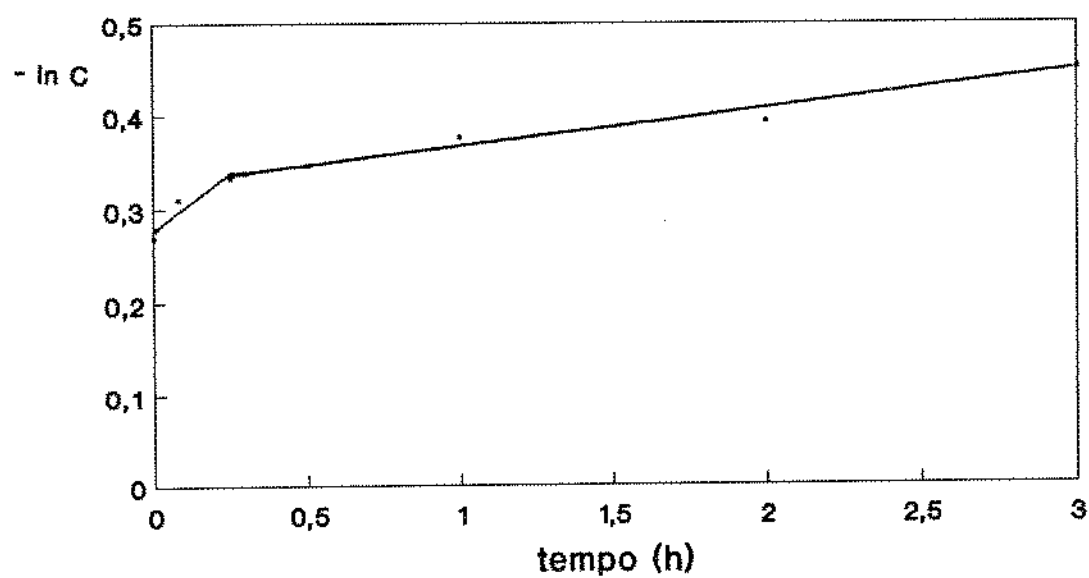


$$- \ln C = 0,2829 + 0,0626t \quad (t \text{ de } 0 \text{ a } 20 \text{ min}) \quad r^2 = 0,9557$$

$$- \ln C = 0,2983 + 0,0097t \quad (t \text{ de } 20 \text{ a } 180 \text{ min}) \quad r^2 = 0,8306$$

Regressão linear da concentração de curcumina em cristais de curcumina pelo tempo de tratamento, a 100 °C.

ANEXO 16



• 125°C

$$-\ln C = 0,2788 + 0,2294t \quad (t \text{ de } 0 \text{ a } 15 \text{ min}) \quad r^2 = 0,8686$$

$$-\ln C = 0,3259 + 0,0395t \quad (t \text{ de } 15 \text{ a } 180 \text{ min}) \quad r^2 = 0,9655$$

Regressão linear da concentração de curcumina em cristais de curcumina pelo tempo de tratamento, a 125 °C.

ANEXO 17

Teores médios de curcumina em oleoresina de cúrcuma estocada a 7°C, em diversos pHs.

pH	Tempo (h)			
	0	24	48	120
	(%)	(%)	(%)	(%)
2,48	28,98	30,10	29,47	28,05
3,30	29,07	30,74	29,49	28,12
4,20	28,50	29,49	29,38	28,41
5,15	28,78	29,22	28,99	28,68
6,09	28,95	29,34	29,16	28,86
6,99	28,56	29,57	29,02	28,59
7,66	26,47	24,95	24,24	24,11

teor de curcumina na oleoresina sem adição de solução tampão:
31,37%
concentração de curcumina na solução utilizada para teste:
1,36 mg/mL

ANEXO 18

Teores médios de curcumina em oleoresina de cúrcuma estocada a 37 °C, em diversos pHs.

pH	Tempo (h)			
	0	24	48	120
	(%)	(%)	(%)	(%)
2,44	28,71	26,31	26,24	25,85
3,28	28,40	26,47	26,35	25,89
4,27	28,57	27,96	27,63	27,29
5,18	28,18	27,39	27,27	26,92
6,07	27,86	27,23	27,07	26,73
6,98	28,21	26,78	26,68	25,37
7,66	27,11	22,02	21,92	21,79

teor de curcumina na oleoresina sem adição de solução tampão:
30,27%
concentração de curcumina na solução utilizada para teste:
1,31 mg/mL

ANEXO 19

Teores médios de curcumina em cristais de curcumina estocados a 7 °C, em diversos pHs.

pH	Tempo (h)			
	0	24	48	120
	(%)	(%)	(%)	(%)
2,47	73,08	73,39	72,95	71,19
3,24	74,16	74,91	73,37	72,33
4,23	73,67	73,82	72,59	72,09
5,23	74,14	74,75	74,82	74,26
6,18	71,29	74,44	74,26	74,12
6,98	70,58	74,42	74,28	74,03
7,56	70,39	72,59	70,36	68,37

teor de curcumina nos cristais sem adição de solução tampão:
79,71 %
concentração de curcumina na solução utilizada para teste:
1,34 mg/mL

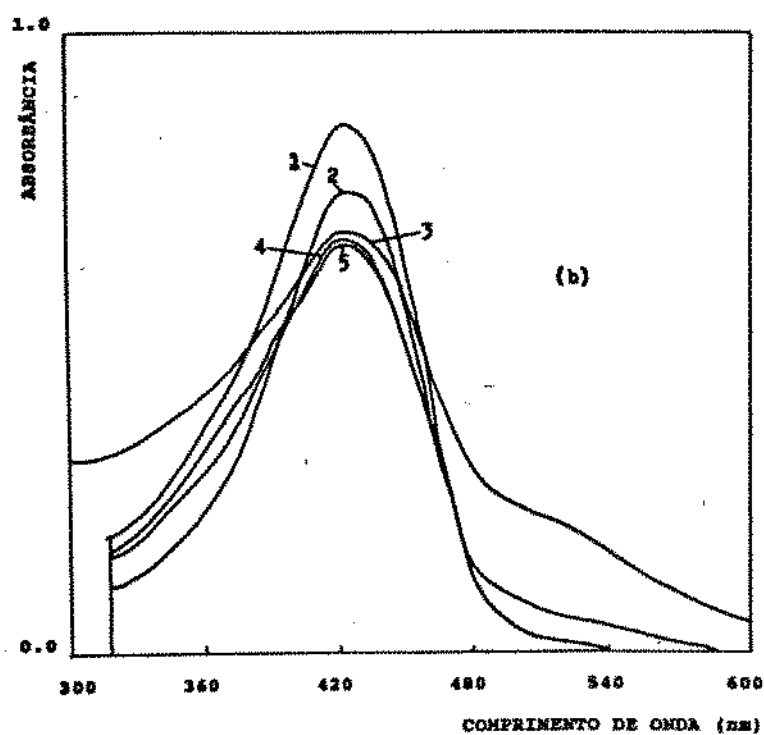
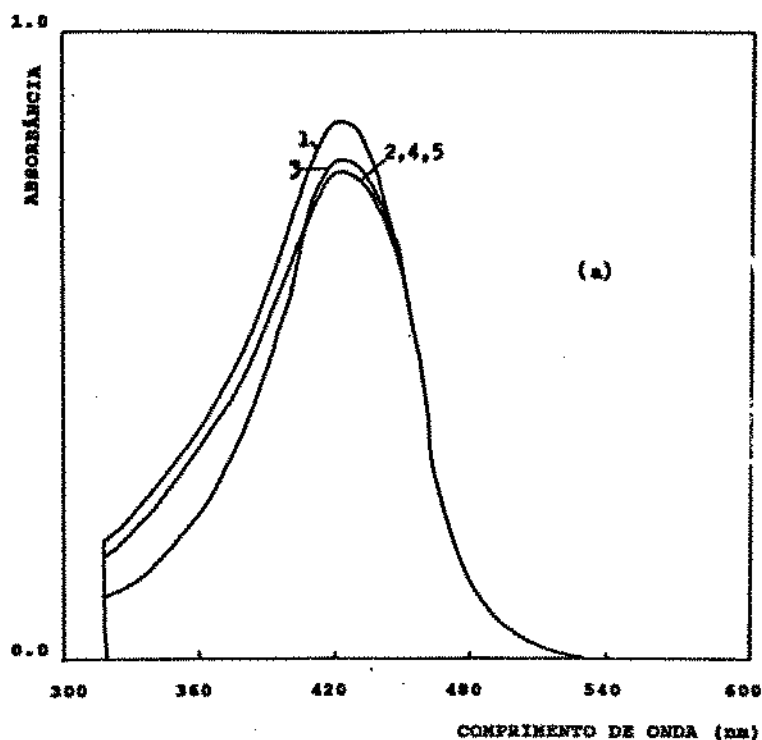
ANEXO 20

Teores médios de curcumina em cristais de curcumina estocados a 37 °C, em diversos pHs.

pH	Tempo (h)			
	0	24	48	120
	(%)	(%)	(%)	(%)
2,47	73,08	72,71	72,63	71,29
3,24	74,16	73,87	72,82	70,93
4,23	74,22	73,11	72,67	72,42
5,23	74,14	74,10	73,83	72,97
6,18	71,29	72,73	72,69	71,72
6,98	70,58	71,72	70,58	68,69
7,56	70,39	71,78	71,46	67,27

teor de curcumina nos cristais sem adição de solução tampão:
79,71 %
concentração de curcumina na solução utilizada: 1,34 mg/mL

ANEXO 21



Curva 1 - sem solução-tampão

Curva 3 - 24 horas de reação

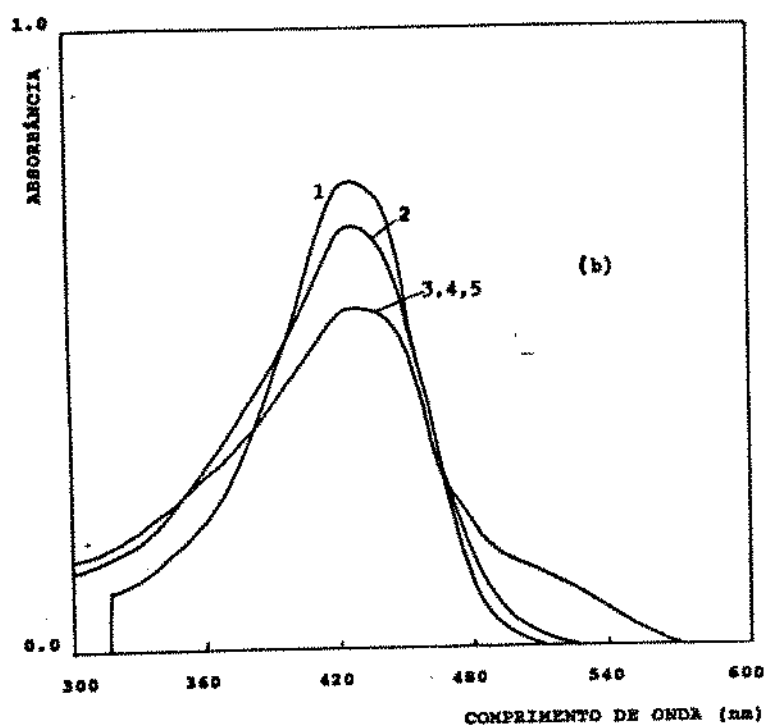
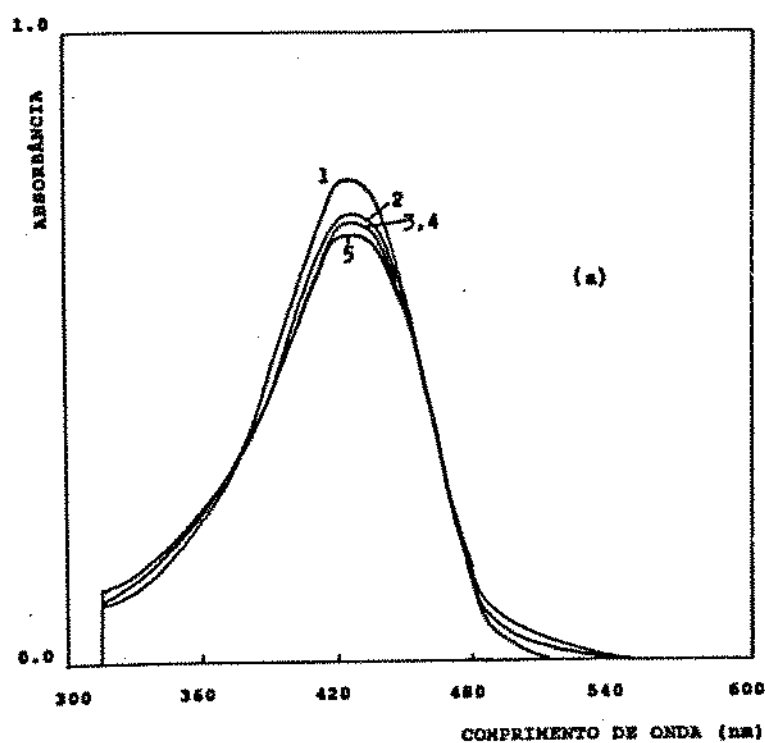
Curva 2 - 0 hora de reação

Curva 4 - 48 horas de reação

Curva 5 - 120 horas de reação

Espectros de absorção de oleoresina de cúrcuma a 7°C, em pHs: 5,15 (a) e 7,66 (b).

ANEXO 22



Curva 1 - sem solução-tampão

Curva 3 - 24 horas de reação

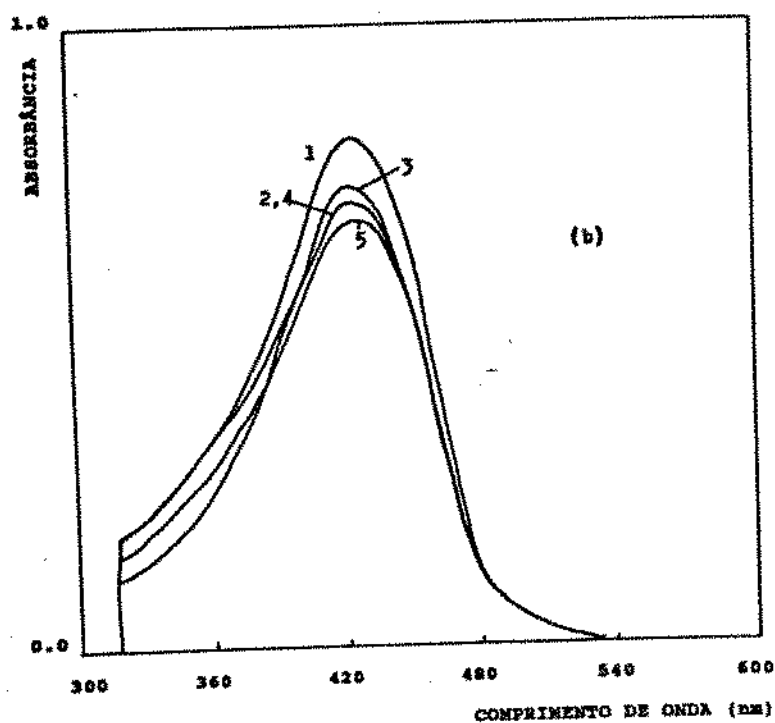
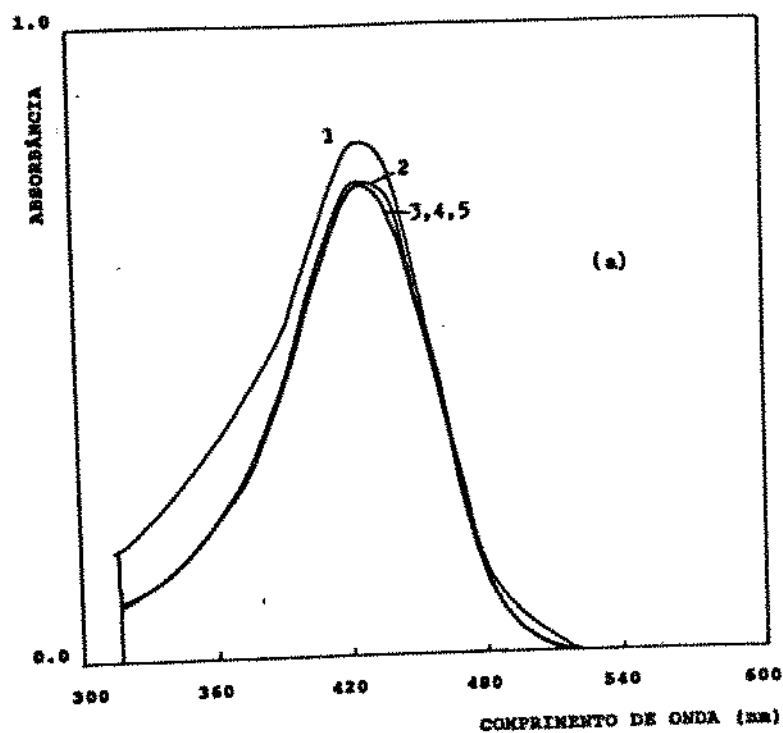
Curva 5 - 120 horas de reação

Curva 2 - 0 hora de reação

Curva 4 - 48 horas de reação

Espectros de absorção de oleoresina de cúrcuma a 37°C, em pHs: 5,18 (a) e 7,66 (b).

ANEXO 23



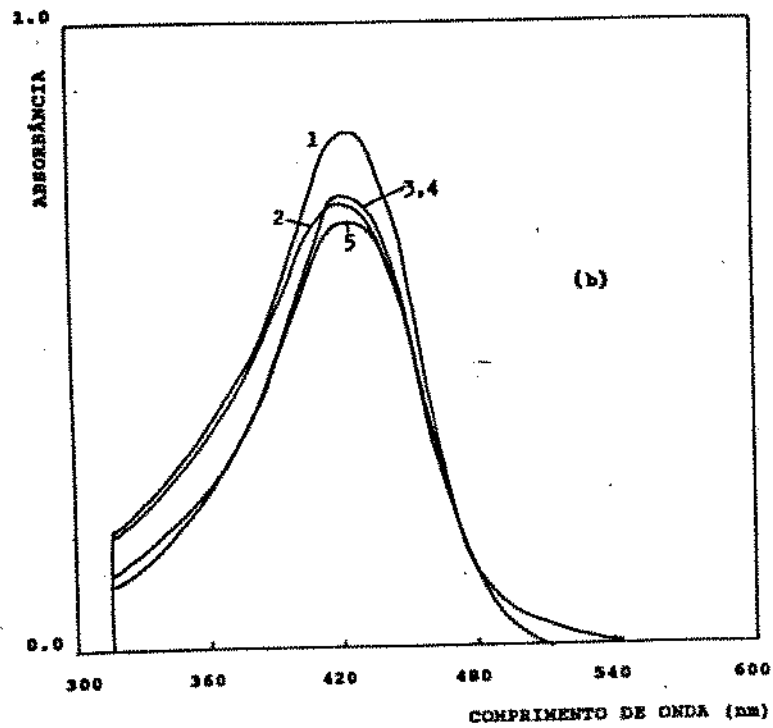
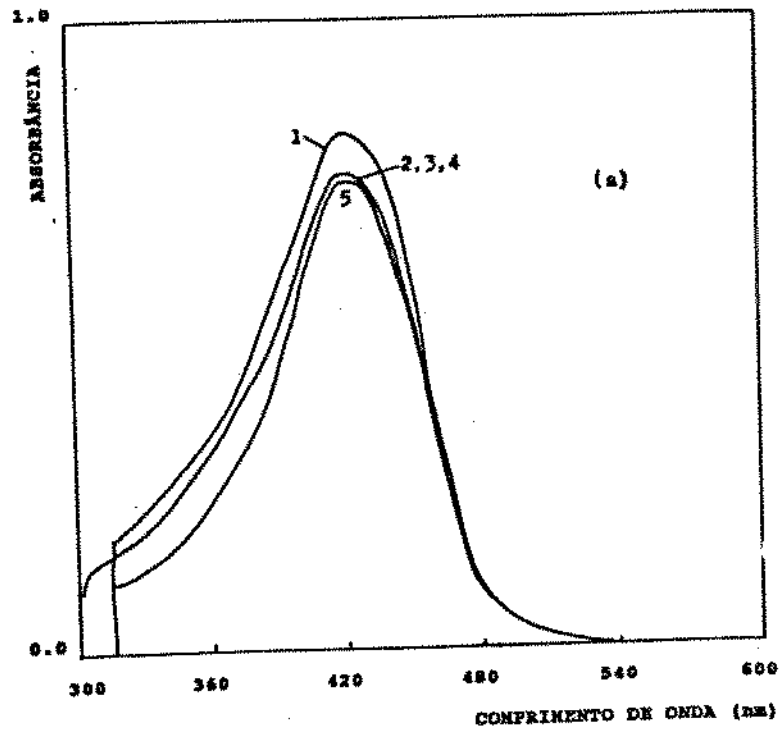
Curva 1 - sem solução-tampão
Curva 3 - 24 horas de reação

Curva 2 - 0 hora de reação
Curva 4 - 48 horas de reação

Curva 5 - 120 horas de reação

Espectros de absorção de cristais de curcumina a 7°C, em pHs:
5,23 (a) e 7,56 (b).

ANEXO 24



Curva 1 - sem solução-tampão
Curva 3 - 24 horas de reação

Curva 2 - 0 hora de reação
Curva 4 - 48 horas de reação

Curva 5 - 120 horas de reação

Espectros de absorção de cristais de curcumina a 37°C, em pHs:
5,23 (a) e 7,56 (b).

ANEXO 25

Teores médios de curcumina em oleoresina de cúrcuma em relação a escuridão e luz (1200 lux).

Tempo (dias)	Ar		N ₂	
	Escuro (%)	Luz (%)	Escuro (%)	Luz (%)
0	31,38*	31,38*	31,38*	31,38*
1	30,72	30,99	30,94	31,02
2	31,15	30,53	30,96	30,12
4	30,61	29,36	30,55	29,35
7	30,59	27,91	30,47	28,26
10	30,54	26,65	30,32	26,93
15	30,39	23,05	30,50	23,55
30	30,25	16,65	29,91	15,68

* teor inicial de curcumina na oleoresina usada na preparação das soluções

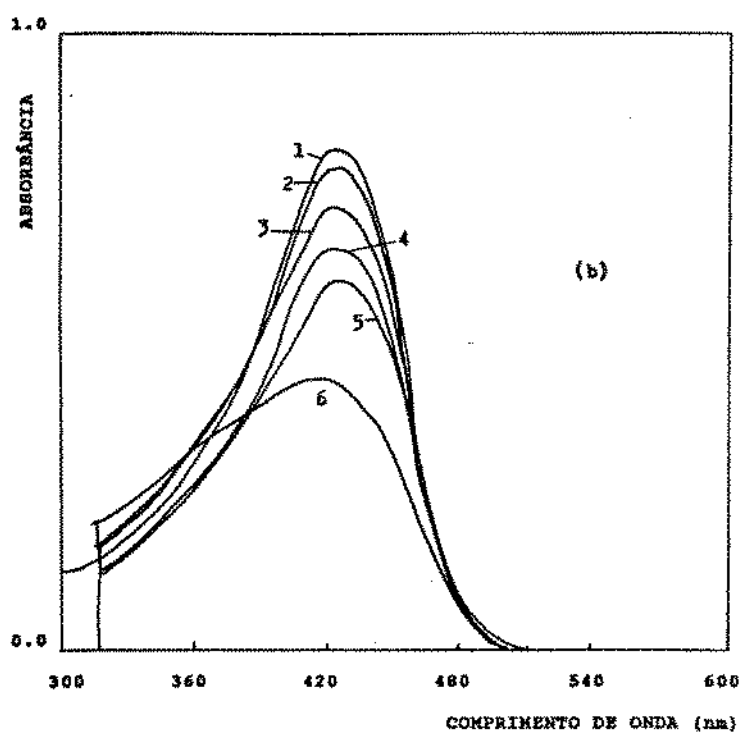
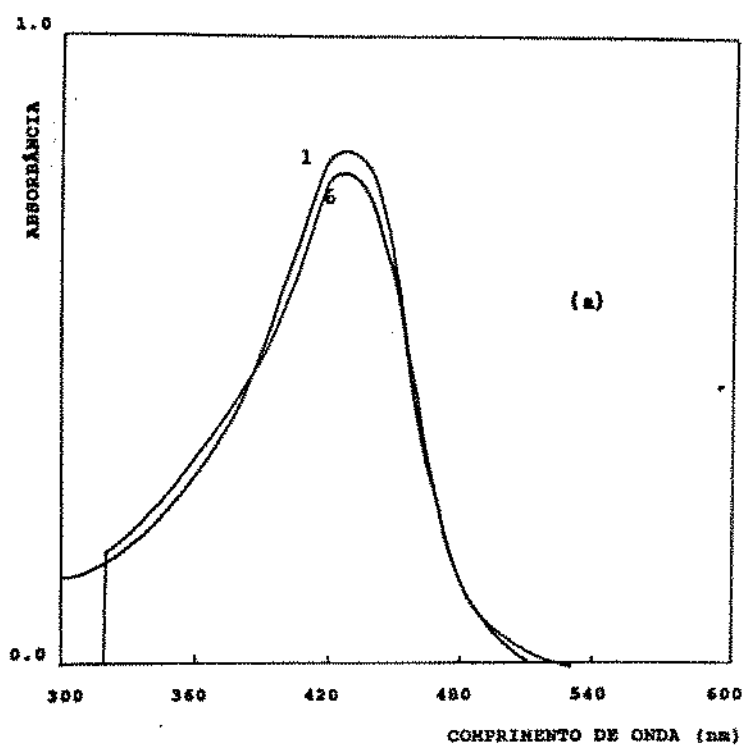
ANEXO 26

Teores médios de curcumina em cristais de curcumina em relação a escuridão e luz (1200 lux).

Tempo (dias)	Ar		N ₂	
	Escuro (%)	Luz (%)	Escuro (%)	Luz (%)
0	77,71*	77,71*	77,71*	77,71*
1	77,69	76,91	77,21	76,93
2	77,25	74,12	77,05	74,94
4	77,54	72,03	76,96	73,24
7	77,45	71,69	77,55	73,13
10	77,52	68,99	77,41	72,30
15	77,30	69,02	77,00	67,78
30	76,31	52,86	76,48	59,61

* teor inicial de curcumina nos cristais utilizados na preparação das soluções

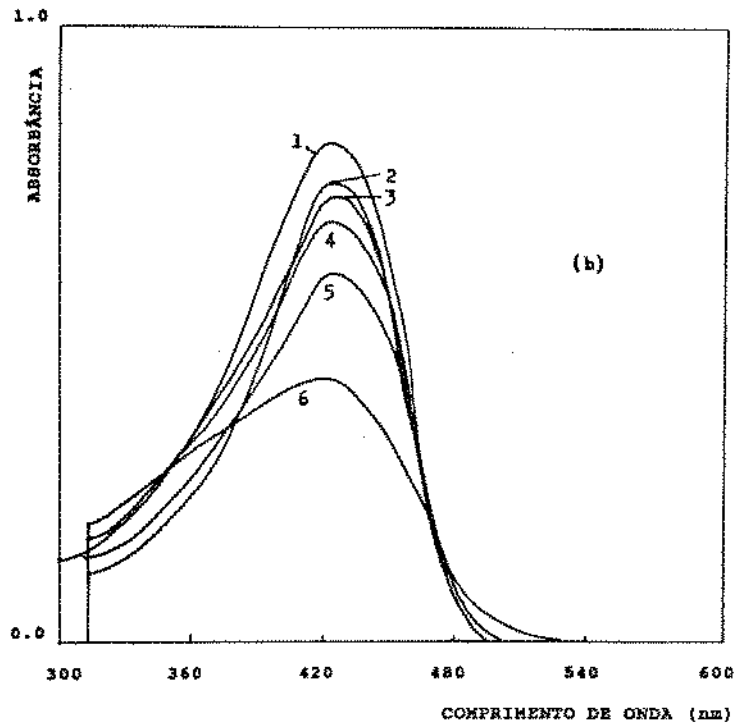
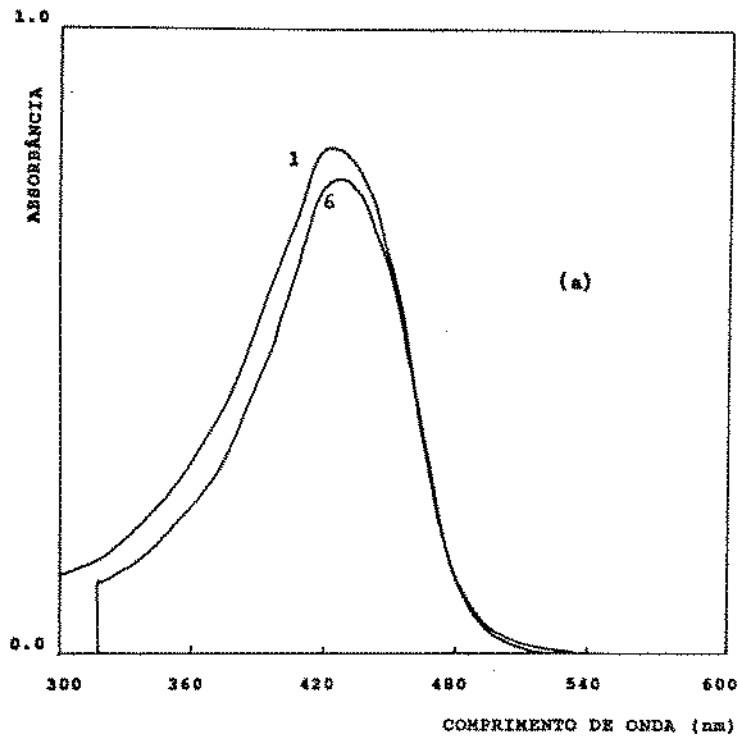
ANEXO 27



Curva 1 - 0 dia de reação
 Curva 2 - 4 dias de reação
 Curva 3 - 7 dias de reação
 Curva 4 - 10 dias de reação
 Curva 5 - 15 dias de reação
 Curva 6 - 30 dias de reação

Espectros de absorção de solução de oleoresina de cúrcuma no sistema ar/escuro (a) e ar/luz (b).

ANEXO 28

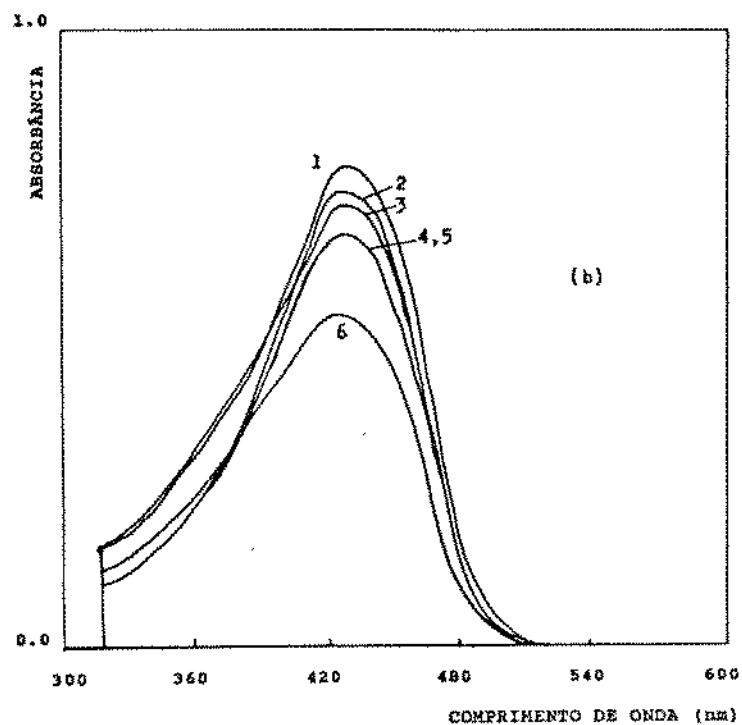
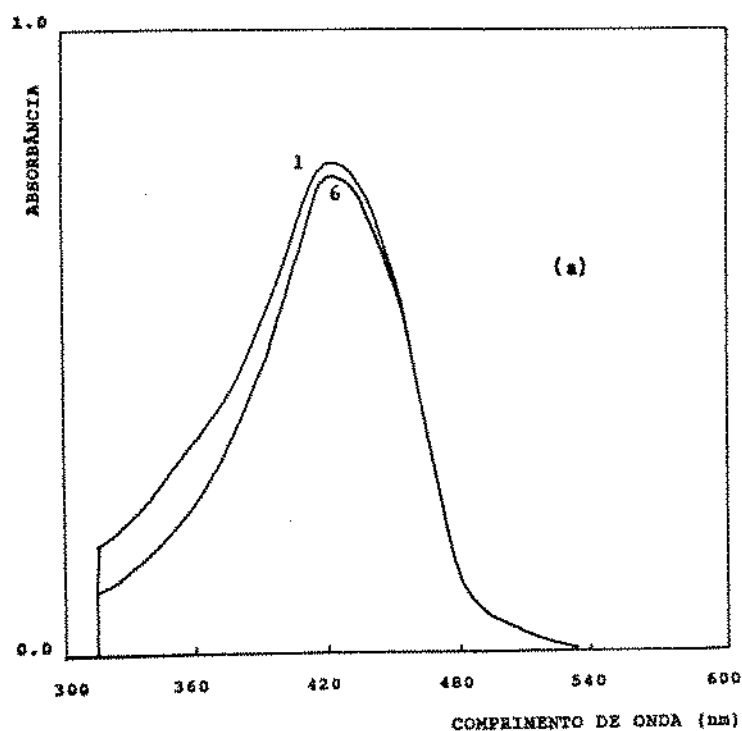


Curva 1 - 0 dia de reação
 Curva 3 - 7 dias de reação
 Curva 5 - 15 dias de reação

Curva 2 - 4 dias de reação
 Curva 4 - 10 dias de reação
 Curva 6 - 30 dias de reação

Espectros de absorção de soluções de oleoresina de cúrcuma no sistema N_2 /escuro (a) e N_2 /luz (b).

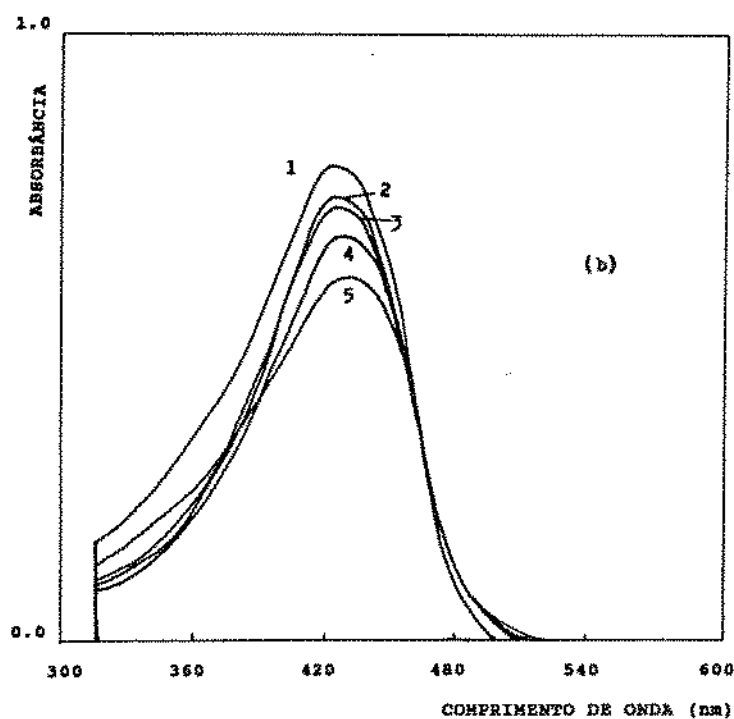
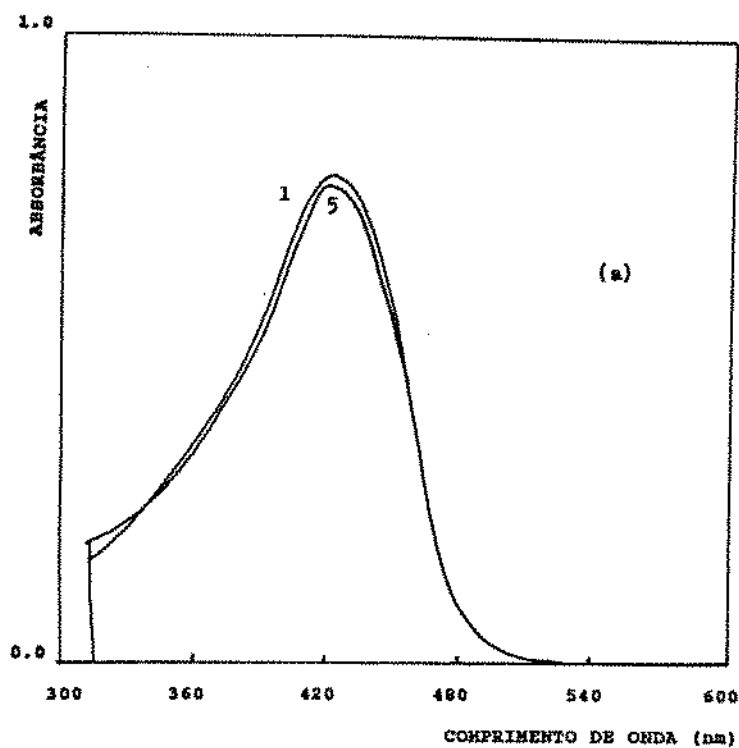
ANEXO 29



Curva 1 - 0 dia de reação	Curva 2 - 4 dias de reação
Curva 3 - 7 dias de reação	Curva 4 - 10 dias de reação
Curva 5 - 15 dias de reação	Curva 6 - 30 dias de reação

Espectros de absorção de soluções de cristais de curcumina no sistema ar/escuro (a) e ar/luz (b).

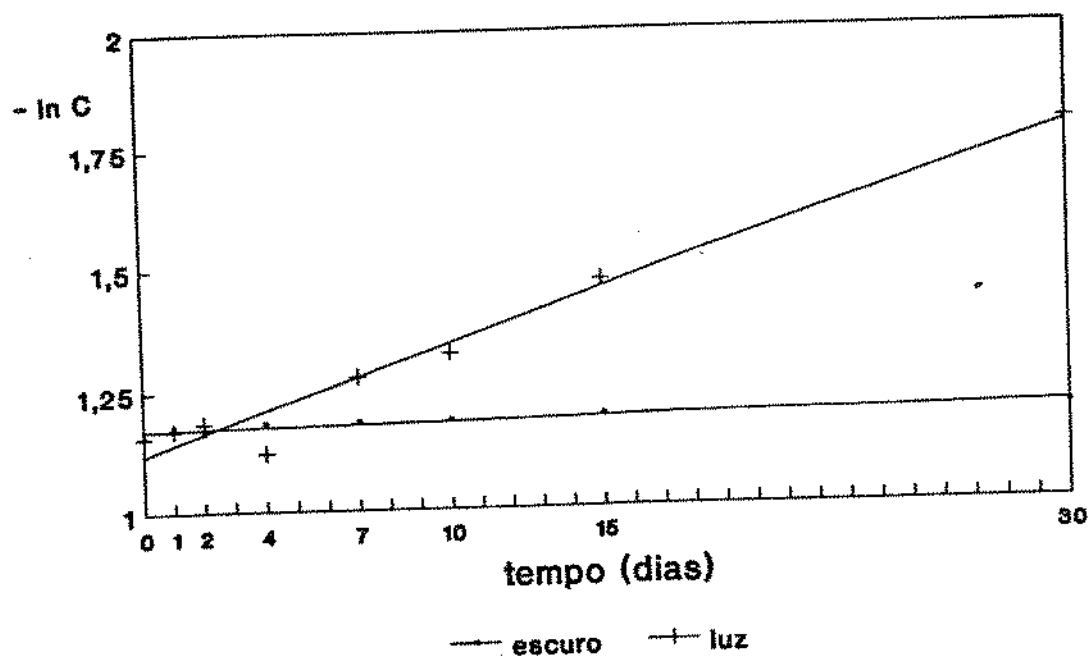
ANEXO 30



Curva 1 - 0 dia de reação
 Curva 2 - 4 e 7 dias de reação
 Curva 3 - 10 dias de reação
 Curva 4 - 15 dias de reação
 Curva 5 - 30 dias de reação

Espectros de absorção de cristais de curcumina no sistema N_2 /escuro (a) e N_2 /luz (b).

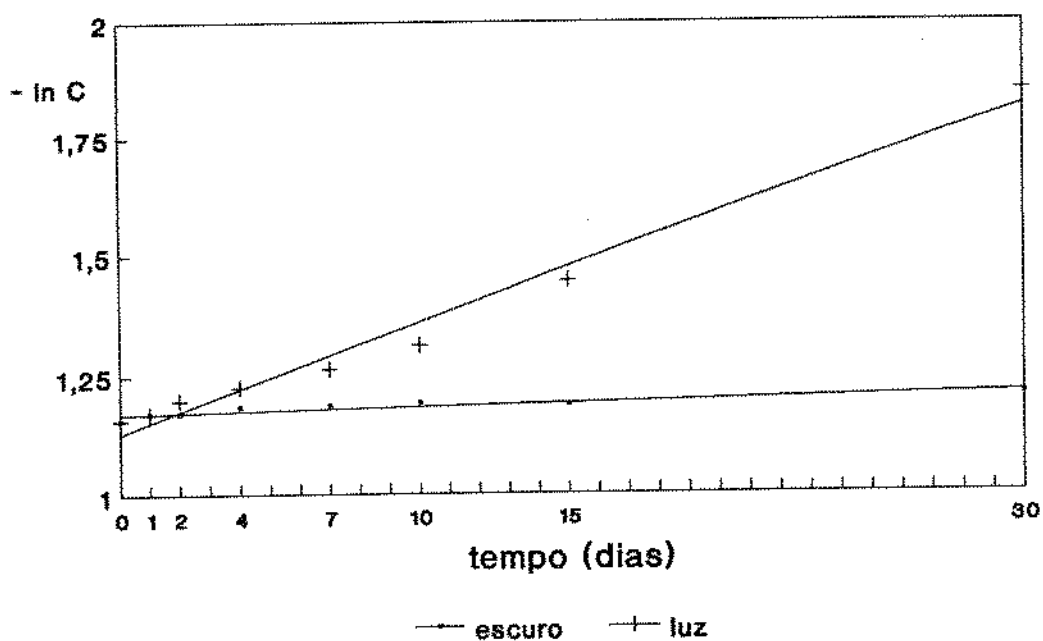
ANEXO 31



Escuro: $-\ln C = 1,1817 + 0,0005t$ (t de 4 a 30 dias) $r^2 = 0,9477$
 Luz : $-\ln C = 1,1219 + 0,0221t$ $r^2 = 0,9692$

Regressão linear da concentração de curcumina em oleoresina de cúrcuma pelo tempo de tratamento, em atmosfera de ar.

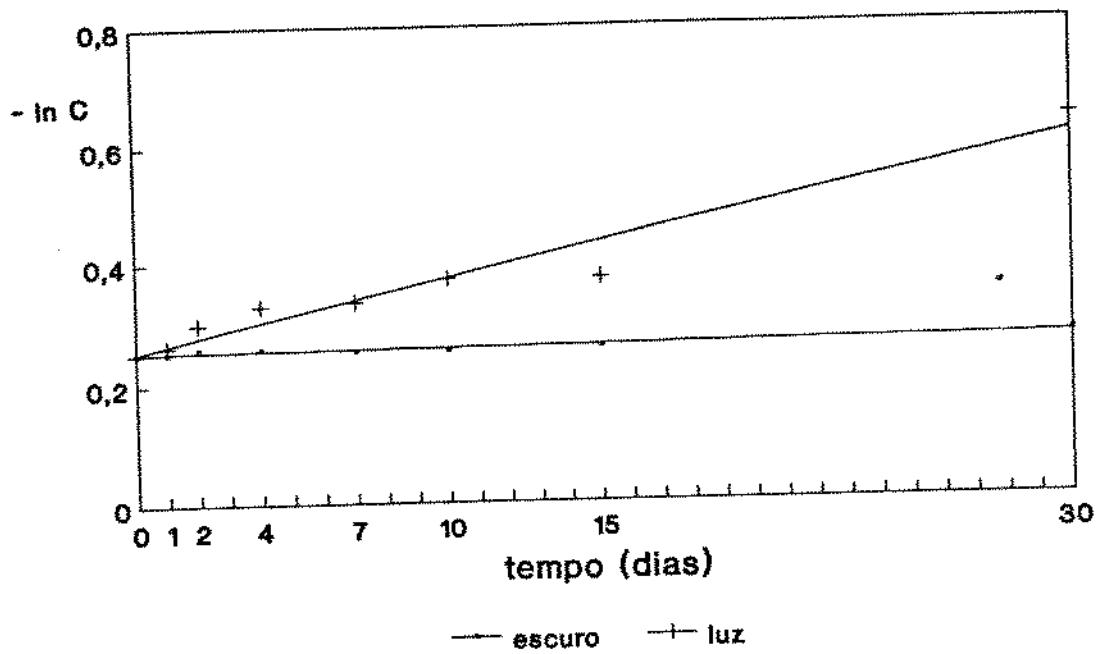
ANEXO 32



Escuro: $-\ln C = 1,1821 + 0,0008t$ (t de 4 a 30 dias) $r^2 = 0,8065$
 Luz: $-\ln C = 1,1313 + 0,0229t$ $r^2 = 0,9820$

Regressão linear da concentração de curcumina em oleoresina de cúrcuma pelo tempo de tratamento, em atmosfera de N_2 .

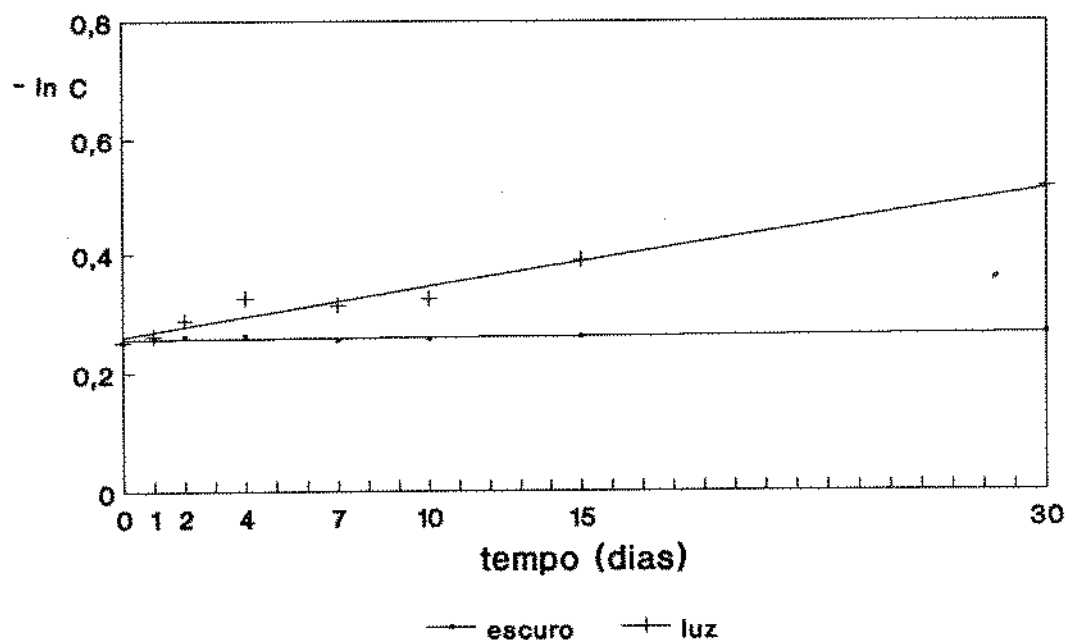
ANEXO 33



Escuro: $-\ln C = 0,2468 + 0,0008t$ (t de 7 a 30 dias) $r^2 = 0,9619$
 Luz: $-\ln C = 0,2547 + 0,0119t$ $r^2 = 0,9453$

Regressão linear da concentração de curcuma em cristais pelo tempo de tratamento, em atmosfera de ar.

ANEXO 34



Escuro: $-\ln C = 0,2504 + 0,0006t$ (t de 7 a 30 dias) $r^2 = 0,9723$
 Luz: $-\ln C = 0,2612 + 0,0084t$ $r^2 = 0,9673$

Regressão linear da concentração de curcumina em cristais pelo tempo de tratamento, em atmosfera de N_2 .