

Tolerabilidade cutânea à bixina

Eliana Carla Gomes de Souza¹, nutrição@faminas.edu.br

1. Faculdade de Minas-Muriaé (FAMINAS-Muriaé), MG.

RESUMO: O objetivo do estudo foi avaliar a tolerabilidade cutânea de extrato que contém bixina. O extrato foi caracterizado através da determinação dos teores de proteína (5,33%), cinzas (2,04%), umidade (5,49%), extrato etéreo (50,49%), pH (2,62%), ponto de fusão (180^o), teor de bixina após 12 meses sob refrigeração (20,8%). Um teste de tolerabilidade cutânea foi feito em oito coelhos albinos da raça Nova Zelândia (quatro machos e quatro fêmeas), 0,5 g de extrato contendo 28% de bixina solubilizada em óleo hipoalergênico foi aplicada em dois sítios. O sistema empregado para a classificação das possíveis lesões foi o empregado pelo Federal Hazardous Substances Act of the USA. Deste trabalho pode-se concluir que a bixina não apresenta nenhum risco quanto à irritação cutânea.

Palavras-chave: tolerabilidade cutânea, bixina.

RESUMEN: Tolerancia cutánea a la bixina. El objetivo del estudio fue evaluar la tolerancia cutánea del estrato que contiene bixina. El estrato fue caracterizado a través de la determinación de los índices de proteína (5,33%), cenizas (2,04%), humedad (5,49%), estrato etéreo (50,49%), pH (2,62%), punto de fusión (180^o), índice de bixina después 12 meses sobre refrigeración (20,8%). Fue hecho un test de tolerancia cutánea donde fueron utilizados ocho conejos albinos de la raza Nueva Zelanda (cuatro machos y cuatro hembras), 0,5 g de estrato

conteniendo 28% de bixina solubilizada en óleo hipoalergénico fue aplicada en dos sitios. El sistema empleado para la clasificación de las posibles lesiones fue el empleado por el Federal Hazardous Substances Act of the USA. De este trabajo se puede concluir que la bixina no presenta ningún riesgo cuanto a la irritación cutánea.

Palabras-llave: tolerancia cutánea, bixina.

ABSTRACT: Cutaneous tolerance to the bixine. The aim of this study was to evaluate the cutaneous tolerance of extract which contains bixine. The extract was characterized through the determination of the protein drifts (5,33%), ashes (2,04%), humidity (5,49%), ethereal extract (50,49%), pH (2,62%), coalition point (1800), bixine drift after 12 months under cooling (20,8%). A test of cutaneous tolerance was taken, where eight albino rabbits of the New Zealand race were used (four males and four females), 0,5 g of extract containing 28% of bixine solubilized in hypoalergic oil was applied in two ranches. The system employed for the classification of the possible lesions was the one used by the Federal Hazardous Substances Act of the USA. From this work it can be concluded that the bixine does not present any risk for the cutaneous irritation.

Keywords: cutaneous tolerance, bixine.

Introdução

O interesse pelos corantes naturais vem aumentando, devido à questionável inocuidade dos corantes artificiais (NAZÁRIO, 1989).

Mesmo com o avanço tecnológico, a substituição dos corantes sintéticos por naturais está condicionada a vários aspectos, como toxicológico, tecnológico e avaliação mercadológica.

A prática de colorir alimentos é muito antiga, porém a preocupação sobre a segurança desta prática é relativamente recente (NAZÁRIO, 1989).

Os carotenóides formam um dos grupos de pigmentos mais difundidos na natureza (BOBBIO; BOBBIO, 2001) e são encontrados nos cloroplastos de tecidos verdes, mas sua cor é mascarada pela clorofila (BRITTON, 1996), em flores, frutas e alguns animais. A função dos carotenóides é simplesmente fornecer cor (HENDRY, 1996) e são responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha (BRITTON, 1996).

Os carotenóides com uso permitido no Brasil são o alfa, beta e gama-caroteno, bixina, norbixina, capsantina, capsorubina e licopeno (GHIRALDINI, 1991).

Do urucum são fabricados os corantes naturais mais difundidos na indústria de alimentos, ou seja, os produtos do urucum representam aproximadamente 70% (em quantidade) de todos os corantes naturais e 50% de todos os ingredientes naturais que têm função corante nos alimentos (GHIRALDINI, 1994). De suas sementes pode se obter corantes com grande variação de tons, que vão desde o amarelo-laranja ao vermelho (NIELSEN, 1990).

Segundo Ghiraldini (1994), do urucum são produzidos: corantes hidrossolúveis à base de norbixina; corantes lipossolúveis à base de bixina; condimentos como colorau ou colorífico, muito comum na culinária brasileira e na América Latina (figura 1).

O pigmento do urucum é conhecido há muito tempo, tendo sido utilizado pelos índios sul-americanos na coloração de seus corpos, artesanatos e instrumentos de caça e pesca e como repelente de insetos. Atualmente observa-se a aplicação deste corante, como corante ou condimento doméstico e até sua aplicação industrial em alimentos, fármacos e cosméticos (CARVALHO, 1989).

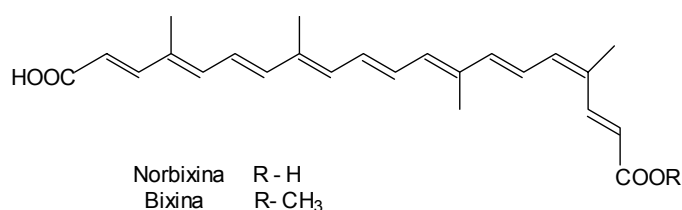


FIGURA 1 Estrutura química da bixina e norbixina

O crescente uso de corantes diversos nos alimentos, determinou o estabelecimento de normas em diversos países, já desde o início deste século. As medidas legais vão desde a proibição de uso, ao uso livre de determinados corantes. Entre os dois limites extremos, há a permissão de uso, a par das justificativas de ordem tecnológica, condicionada à demonstração da segurança de uso através de ensaios toxicológicos em animais de laboratório e no homem (NAZÁRIO, 1989).

O conhecimento da toxicidade das substâncias químicas é obtido através de experimentações laboratoriais utilizando-se animais. Esses métodos básicos de pesquisa são empregados com todo critério científico e nunca realizados

unicamente com a finalidade de se cumprir exigências legais, mas para fornecer informações relativas aos mecanismos das ações tóxicas, aos efeitos tóxicos e, principalmente, para se avaliar riscos que possam ser extrapolados ao homem. Essa extrapolação para o homem somente será possível, ainda com limitações, se forem seguidos alguns critérios básicos indispensáveis, durante a realização dos experimentos, como utilizar espécies e linhagens de animais que sejam susceptíveis à indução dos efeitos que se observar; utilizar a via de exposição mais comum para o homem; utilizar a substância química no estado físico e na forma química em que é encontrada nas exposições; e observar as possíveis ocorrências de efeitos secundários e doenças que possam surgir posteriormente (SALGADO; FERNÍCOLA, 1989).

I – Material e métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório Biofármacos do Departamento de Bioquímica e no Laboratório de Pigmentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa.

1.1 – Caracterização do extrato

A substância utilizada no teste toxicológico, extrato em pó contendo 28% de bixina, foi caracterizada através da determinação do ponto de fusão com a utilização do equipamento da marca Quimis, solubilidade (AOAC, 1998), proteína pelo método semi micro Kjeldhal (SILVA, 2002), umidade (SILVA, 2002), cinzas (SILVA, 2002), extrato etéreo (SILVA, 2002), pH (AOAC, 1998), teor de tanino e quantificação do teor de bixina do extrato após 12 meses de estocagem sob refrigeração (4^o C).

1.2 – Teste de tolerabilidade cutânea

Foi feito um teste de tolerabilidade cutânea em que foram utilizados oito coelhos albinos da raça Nova Zelândia (quatro machos e quatro fêmeas), que foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo alimentação (ração comercial) e água *ad libitum*. Ver quadro 1 e quadro 2.

Vinte e quatro horas antes da aplicação da bixina, os pêlos da região dorsal do tronco dos animais foram depilados. Foram escolhidos aleatoriamente quatro sítios de aplicação da bixina, dois dos quais foram submetidos à abrasão, com cuidado para que não ferisse a pele do animal.

Uma dose de 0,5 g de extrato contendo 28% de bixina solubilizada em óleo hipoalergênico foi aplicada em dois sítios, um submetido à abrasão e o outro não (figura 2). Os dois outros sítios serviram de controle da reação. As áreas em que ocorreram as aplicações foram recobertas com gaze fixada com fita hipoalergênica.

QUADRO 1 Composição centesimal da ração comercial

Nutrientes	%
Proteína (min)	23
Extrato etéreo (mín)	2,5
Umidade (máx)	13
Matéria fibrosa (máx)	9,0
Matéria mineral (máx)	8,0
Fósforo (min)	0,8
Cálcio (Max)	1,8



FIGURA 2 Representação das áreas corporais utilizadas no experimento, no lado direito do coelho, os pontos em cinza representam as áreas escarificadas com e sem aplicação do extrato e no lado esquerdo, os pontos em preto representam as áreas não escarificadas com e sem aplicação do extrato.

QUADRO 2 Nutrientes enriquecedores da ração (unidade/kg de ração)

Nutrientes	Unidade
Vitamina A	20000 UI
Vitamina D ₃	6600 UI
Vitamina E	30 UI
Vitamina K	6 mg
Vitamina B ₁₂	12 mcg
Vitamina B ₂	8 mg
Pantotenato de cálcio	24 mg
Niacina	95 mg
Tiamina	4 mg
Colina	2000 mg
Piridoxina	6 mg
Biotina	0,1 mg
Ácido fólico	0,5 mg
Manganês	50 mg
Iodo	2 mg
Ferro	25 mg
Zinco	35 mg
Cobre	26 mg
Antioxidante	100 mg

A duração da exposição foi de quatro horas, depois a região foi limpa. Após quarenta e oito horas, todo o procedimento de aplicação e de lavagem foi repetido, durante 10 dias, totalizando 5 aplicações. A observação dos sintomas de edema, eritema e escaras nos animais foi efetuada após sessenta minutos, 24, 48 e 72 horas após o término da última exposição.

O sistema empregado para a classificação das possíveis lesões foi o empregado pelo Federal Hazardous Substances Act of the USA (BRITO, 1994).

Os irritantes cutâneos são definidos conforme o esquema mostrado nos quadros 3 e 4.

O modelo que foi utilizado no relatório encontra-se nas tabelas 1 e 2, assim como o modo de interpretar os resultados nela contidos.

Em seguida, os subtotais A e B são somados e o resultado é dividido por quatro (eritema e edema em pele íntegra e escarificada). De acordo com o valor obtido, as substâncias são classificadas em:

- 0,0 – 1,0 = não irritante
- 1,1 – 2,0 = irritante moderado
- 2,1 – 3,0 = irritante grave
- 3,1 – 4,0 = corrosivo

II – Resultados e discussão

2.1 – Caracterização do extrato

Os extratos contendo corantes têm sido usados por muito tempo e um dos primeiros a serem usados foi o de urucum. Nesses extratos, não há carotenóide puro, ou simplesmente mistura de carotenóides, mas geralmente contém grande quantidade e variedade de outros componentes não identificados (BRITTON, 1996). Ver quadro 5.

O ponto de fusão encontrado foi de 180°C. Segundo HENDRY (1996) a bixina e a norbixina são estáveis ao calor, entretanto, a degradação de bixina pode ocorrer em temperaturas acima de 100°C e o ponto de fusão pode variar de 130 a 220°C. O pH foi de 2,62.

O teor de bixina após 12 meses sob refrigeração foi de 20,8%, reduzindo 7,2% do teor inicial. Essa perda pode estar mais relacionada com a exposição à luz, já que não há nenhum relato sobre a instabilidade de extratos contendo bixina a temperaturas baixas e a bixina estava armazenada em saco plástico transparente e este pigmento é instável à luz.

Os resultados do teste de solubilidade estão apresentados no quadro 6.

A ampla solubilidade apresentada pelo extrato, que varia de solventes polares até apolares, pode ser devido ao fato de o extrato conter inúmeras substâncias, o que pode ser comprovado pela diferença na coloração apresentada nos extratos dissolvidos em diferentes solventes. Dentre essas diferentes substâncias presentes no extrato, podem-se encontrar outros carotenóides que

QUADRO 3 Formação de eritema e escaras

Lesão	Valor
Sem eritema	0
Eritema leve (apenas perceptível)	1
Eritema bem definido	2
Eritema moderado a grave	3
Eritema grave (vermelho violeta) com escaras	4

QUADRO 4 Formação de edema

Lesão	Valor
Sem edema	0
Edema leve (apenas perceptível)	1
Edema bem definido (bordas menores que 1 mm)	2
Edema moderado (bordas de 1 mm)	3
Edema grave (bordas com mais de 1 mm e não restrito às regiões de aplicação)	4

TABELA 1 Subtotal A = somatória de a até h

Eritema e escaras	Litura (H)	Coelhos (nº)						média
		1	2	3	4	5	6	
Pele íntegra	1							a
	24							b
	48							c
	72							d
Pele escarificada	1							e
	24							f
	48							g
	72							h

TABELA 2 Subtotal B = somatória de i até p

Edema	Leitura (H)	Coelhos (nº)						média
		1	2	3	4	5	6	
Pele íntegra	1							i
	24							j
	48							k
	72							l
Pele escarificada	1							m
	24							n
	48							o
	72							p

QUADRO 5 Composição do extrato de bixina

	%
Proteína	5,33
Cinzas	2,04
Extrato etéreo	50,49
Tanino	0,009
Umidade	5,49

QUADRO 6 Solubilidade da bixina em diferentes solventes

Solventes *	Solubilidade
Água deionizada (pH – 7,0)	Não solúvel
Álcool metílico	Parcialmente solúvel
Álcool etílico	Parcialmente solúvel
Éter etílico	Solúvel
Clorofórmio	Solúvel (vermelho tijolo)
Benzeno	Parcialmente solúvel (coloração forte)
Éter de petróleo	Parcialmente solúvel (amarelo claro)
Hexano	Parcialmente solúvel (amarelo claro)

* Solventes da marca Merck, p.a., temperatura ambiente

foram extraídos do urucum juntamente com a bixina e proteínas que se encontram ligadas aos carotenóides e essas proteínas podem conferir solubilidade aos carotenóides.

2.2 – Ensaio biológico – tolerabilidade cutânea

No teste de tolerabilidade cutânea, comparando-se os sítios de aplicação da bixina com os sítios controles, pode-se verificar que não houve alterações cutâneas relativas a eritema, escaras e edema em nenhum dos tempos observados. Tais dados concordam com os obtidos por GERMANO et al. (1997) avaliaram uma possível resposta tópica ao extrato de urucum na pele de coelho em uma única aplicação, depois de repetidas aplicações e após exposição à luz ultravioleta.

III – Conclusão

Como o corante não provocou nenhuma lesão cutânea, conclui-se que o mesmo tem boa tolerabilidade cutânea, podendo ser usado em produtos de uso tópico, como cosméticos.

Referências bibliográficas

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001, 145 p.

BRITO, A. S. Manual de ensaios toxicológicos. In: **Vivo**. Campinas: UNICAMP, 1994, 122 p.

BRITTON, G. Carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**. 2. ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1996, p. 197-243.

CARVALHO, P. R. N. Extração de corante de urucum. In: Seminário de corantes naturais para alimentos, Campinas, 1989. **Resumo...** Campinas, ITAL, 1989. p. 74-77.

GERMANO, M. P.; et al. Drugs used in Africa as dyes: I. Skin absorption and tolerability of *Bixa orellana* L. **Phytomedicine**, 4(2), p. 129-131, 1997.

GHIRALDINI, E. Corantes naturais mais comumente usados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, 2(1): 83-87 p., 1994.

GHIRALDINI, J. E. Mercado de corantes naturais. In: Seminário de corantes naturais para alimentos, 2: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE URUCUM, 1, Campinas, 1991. **Resumo...** Campinas, ITAL, 1991. p. 79-83.

HENDRY, B. S. Natural food colours. In: HENDRY, G. A. F., HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**. 2. ed., Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1996, p. 40-79.

NAZÁRIO, G. Avaliação Toxicológica de Corantes Naturais. In: Seminário de corantes naturais para alimentos, Campinas, 1989. **Resumo...** Campinas, ITAL, 1989. p. 2-6.

NIELSEN, M. R. Natural colours for ice cream. **Rev. Scandinavian Dairy Information**. v. 4, n. 4, 1990, p. 56-58.

SALGADO, P. E. T.; FERNÍCOLA, N. A. G. G. **Noções gerais de toxicologia ocupacional**, São Paulo, 1989. 146 p.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos**. Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 2002, 165 p.