



Assinado  
Digitalmente

**REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL**  
MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS  
**INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**

## CARTA PATENTE Nº PI 0909248-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

**(21) Número do Depósito:** PI 0909248-0

**(22) Data do Depósito:** 19/03/2009

**(43) Data da Publicação do Pedido:** 01/10/2009

**(51) Classificação Internacional:** A23L 5/48.

**(52) Classificação CPC:** A23L 5/48.

**(30) Prioridade Unionista:** US 12/399,223 de 06/03/2009; US 61/040,208 de 28/03/2008.

**(54) Título:** MÉTODO DE PREPARAR CORES NATURAIS, ESTÁVEIS, CORANTE COM BASE EM SUCO NATURAL ESTÁVEL APRESENTANDO A COR DESEJADA, PRODUTO ALIMENTÍCIO E MÉTODO DE SELECIONAR UMA COR DESEJADA PARA SER PREPARADA

**(73) Titular:** WILD FLAVORS, INC.. Endereço: 1261 Pacific Avenue, Erlanger KY 41018, ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA(US)

**(72) Inventor:** SHAOWEN WU; CHAD FORD; GREGORY HORN.

**Prazo de Validade:** 20 (vinte) anos contados a partir de 19/03/2009, observadas as condições legais

**Expedida em:** 18/12/2018

Assinado digitalmente por:  
**Liane Elizabeth Caldeira Lage**  
Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODO DE PREPARAR CORES NATURAIS, ESTÁVEIS, CORANTE COM BASE EM SUCO NATURAL ESTÁVEL APRESENTANDO A COR DESEJADA, PRODUTO ALIMENTÍCIO E MÉTODO DE SELECIONAR UMA COR DESEJADA PARA SER PREPARADA"**.

Campo Técnico

Este pedido é relacionado a e reivindica prioridade a partir do Pedido Provisório U.S. Serial Nº 61/040.208, Wu *et al*, depositado em 28 de Março de 2008, incorporado aqui por referência.

Esta divulgação refere-se a produtos de cor estável natural que podem ser usados em uma ampla faixa de aplicações incluindo gêneros alimentícios, fármacos, suplementos nutricionais, materiais de cuidado pessoal, cosméticos, e rações para animais, e um processo para preparar estes produtos alimentícios e comestíveis coloridos. Especificamente, a divulgação refere-se aos produtos de cor estável que são gerados processando-se suco de fruta de *Genipa americana* que contém genipina, derivados de genipina, ou compostos de pré-genipina, junto com outros sucos ou extratos comestíveis que contêm aminoácidos, polipeptídeos, proteínas, e compostos com um ou mais grupos amina primária.

Antecedentes

Atualmente, um número decrescente de pessoas está querendo comer ou beber gêneros alimentícios e usar produtos cosméticos que são coloridos sinteticamente, resultando em um crescimento constante do mercado para corantes naturais. Assim, uma cor natural, especialmente um corante azul natural que é estável no pH baixo e a temperaturas usadas no processamento, seria de interesse comercial mundial significativa. As únicas cores azuis naturais comercialmente factíveis atualmente são aquelas derivadas de frutas de gardênia (*Gardenia jasminoides* Ellis). Entretanto, azul de gardênia não está correntemente disponível em mercados dos E.U.A e Europa, ele está disponível apenas em alguns mercados asiáticos como um produto de cor segura para aplicações em alimento/fármaco.

A fruta de gardênia contém uma grande quantidade de iridoides

Segue-se folha 1a

1a

tais como geniposídeo, gardenosídeo, genipina-1-b-gentiobiosídeo, ácido geniposídico e genipina (Endo, T. e Taguchi, H. Chem. Pharm. Bull. 1973). Entre eles genipina é um composto-chave contribuindo para o azul de gar-

Segue-se folha 2

dênia sempre que ele reage com aminoácidos (Patente US 4.878.921). Correntemente azul de gardênia é fabricado como um produto de reação química usando geniposídeo extraído do suco de gardênia, genipina purificada, ou derivados de genipina, com aminoácidos isolados. Ao contrário, o processo da presente invenção utiliza fruta integral, purê ou suco de plantas contendo genipina para fornecer um suco de cor natural ou concentrado.

Genipina e outros compostos de iridoide, tais como ácido genípico, gentiobiosídeo de genipina, geniposídeo e ácido geniposídico são encontrados também nas frutas de *Genipa americana*, também conhecidas como Genipapo, ou Huito, uma planta silvestre da América Latina tropical. As frutas maduras de *Genipa americana* foram comumente usadas por pessoas locais para fabricar bebidas refrigerantes, geleias, sorvete de frutas, sorvete, compotas, xarope, um refresco - genipapada, vinho, um licor forte e extrato de curtimento. Frutas verdes ou não maduras são usadas como uma fonte de cor para pintar faces e corpos para adorno, para repelir insetos, e para tingir roupa, cerâmica, redes, utensílios e materiais de cesto com um roxo azulado. A fruta e os sucos também têm propriedades medicinais e xaropes são usados como fármaco para resfriado e tosse. Flores e casca de *Genipa americana* também têm propriedades medicinais.

*Genipa americana* também é uma fonte natural de ferro, riboflavina e substâncias antibacterianas, além dos carboidratos, açúcar, proteínas, cinza e ácido málico em suas frutas. Os principais compostos bioquímicos de *Genipa americana* incluem: cálcio, fósforo, vitamina C, e cafeína, caterina, ácido genípico, genipina, gentiobiosídeo de genipina, ácido genipínico, geniposídeo, ácido geniposídico, gardenosídeo, genamesídeos AD, gardeniol, éster metílico do ácido deacetil asperulosídico, *shanzhiside*, glicerídeos, hidantoína, manitol, ésteres metílicos, ácido tânico e tartárico, e taninos.

A presente divulgação refere-se à preparação de corantes estáveis por mistura e coprocessamento de suco de fruta, particularmente de *Genipa americana*, com outros sucos ou extratos comestíveis de fruta, vegetal, materiais vegetais, grão, legume, nozes, sementes, materiais animais incluindo leite e ovo, materiais microbianos, e algáceos, que contêm amino-

ácidos, ou polipeptídeos, ou proteínas. As cores do produto não são estas exceto a partir da combinação de pigmento simples, e os produtos de cor têm grande estabilidade à acidez e aquecimento. O coprocessamento da fruta de *Genipa americana* com outra(s) fruta(s) selecionada(s) (definida(s) amplamente como acima a incluir também grãos e materiais animais) para obter o suco compósito é simples e eficaz. Os produtos podem ser usados em uma ampla faixa de aplicações, tal como gêneros alimentícios, fármacos, suplementos nutricionais, materiais de cuidado pessoal, cosméticos, e ração para animais.

#### 10 Sumário da Invenção

A presente divulgação fornece um método de produzir produtos de cor estável natural em que frutas de *Genipa americana* são coprocessadas com outros sucos ou extratos comestíveis a partir de frutas, vegetais, materiais vegetais, grãos, legumes, nozes, sementes, materiais animais incluindo leite e ovos, materiais microbianos, e algáceos que contêm aminoácidos, polipeptídeos, e/ou proteínas.

A presente divulgação fornece ainda produtos de cor natural que têm propriedades organolépticas desejáveis e excelente compatibilidade com alimentos e componentes de alimento, são intrinsecamente aceitáveis aos consumidores devido à natureza de suas matérias-primas e têm certos valores nutricionais, e que também têm estabilidade muito boa em uma ampla faixa de pH e boa resistência em uso ao calor e luz. Portanto, os produtos são adequados para o uso em várias aplicações, tais como gêneros alimentícios, fármacos, suplementos nutricionais, materiais de cuidado pessoal, cosmético, e ração para animais.

#### 25 Breve Descrição dos Desenhos

A figura 1 é uma representação em fluxograma do processo descrito no Exemplo 3.

#### Descrição Detalhada da Invenção

30 A presente divulgação fornece um método de produzir produtos de cor estável natural usando-se suco de fruta de *Genipa americana* com os vários materiais comestíveis adicionados. Acredita-se que a cor azul estável

natural seja obtida quando genipina e possivelmente gentiobiosídeo de genipina, que naturalmente existem na fruta de *Genipa americana*, reagem com aminoácidos, polipeptídeos, ou proteínas, e outros compostos com grupos amina primária, nos vários materiais comestíveis. Todas as técnicas e operações de extração de suco conhecidas e praticadas, e tecnologias de processamento associadas com componentes que não de suco reivindicados, são consideradas adequadas para preparar os sucos de cor desta invenção e são incorporados por referência aqui.

#### Materiais de Partida

Os materiais de partida usados no processo da presente invenção são frutas maduras de *Genipa americana* L.; também conhecida por numerosos nomes informais: genipapo, huito, jaguar, bilito, cafecillo denta, caruto, caruto rebalsero, confiture de singe, danipa, genipa, génipa, genipayer bitu, guaitil, guaricha, guayatil colorado, huitol, huitoc, huitu, irayol, jagua blanca, jagua amarilla, jagua colorado, jeipapeiro, juniper, maluco, mandipa, marmelade-box, nandipa, nandipa genipapo, tapaculo, tapoeripa, taproepa totumillo, yagua, yanupa-i, yenipa-i, yenipapa bi, genipapo, huitoc, vito, chipara, guanapay, ou outras variedades tais como jenipaporana ou jenipapobravo. A fruta é ideal para colheita quando madura em tamanho, firme, e verde a marrom esverdeado em cor; frutas excessivamente maduras caem até o solo e deterioram.

Materiais podem ser fruta integral, suco de fruta, purê de fruta, concentrado de suco de fruta, pó seco de frutas ou suco, e a parte insolúvel em água das frutas de *Genipa americana* L ou seus parentes próximos que também contêm genipina, derivados de genipina, ou compostos de pré-genipina. Estes compostos são um subgrupo da classe de iridoide de fitoquímicos que são amplamente distribuídos, incluindo na família Rubiaceae. Alguma atenção tem sido prestada a um entendimento da biossíntese de iridoide como um elemento da quimiosistemática (Sampaio-Santos e Kaplan, J. Braz. Chem. Soc. 12 (2001)), e estes dados ajudam a descrever o grupo de plantas contendo genipina que produzem fruta e suco adequados para o uso de acordo com esta invenção. Geralmente, tais frutas incluiriam

membros da família Rubiaceae, que contém genipina ou derivados de genipina suficientes, incluindo gentiobiosídeo de genipina, geniposídeo, ácido geniposídico e gardenosídeo, para reagir com os outros compostos definidos aqui para produzir um produto colorido. Foi relatado na base de dados de DNA (Andreason e Bremer, Am. J. Botany 87 1731-1748 (2000)) que *Genipa americana* compreende um Glade junto com *Gardênia* e *Kailarsenia*. Sem restringir o escopo de frutas que podem ser usadas na presente invenção, menção de *Genipa americana* deve ser tomada para incluir frutas comestíveis ou sucos ou extratos ou partes comestíveis de plantas relacionadas tais como *Gardênia* e *Kailarsenia* e outras plantas contendo genipina, incluindo *Gardenia jasminoides* Ellis e suas variedades.

Materiais podem ser extratos aquosos ou solventes das fontes descritas. Solventes podem ser aqueles de uso comum na técnica, incluindo água, acético, cítrico, ou soluções tampão de fosfato, metanol, etanol, isopropanol, ou misturas dos mesmos em razões diferentes.

A ampla faixa de materiais comestíveis adequados compreende frutas, vegetais, grãos, legumes, nozes, sementes, materiais vegetais, materiais animais incluindo leite e ovos, materiais microbianos e algáceos, e subprodutos de tais fontes, que contêm aminoácidos, polipeptídeos, e proteínas. Estes materiais podem ser coprocessados com a fruta ou suco de fruta de *Genipa americana* para produzir corantes estáveis naturais, especialmente de cor azul.

As frutas, suco de fruta, purê, concentrado de suco, pó seco ou extratos do coprocessamento podem ser obtidos de frutas incluídas dentro dos grupos listados pelo FDA (Form FDA 2438g (10/91) (Citrus, Pome, Stone, Tropical/Subtropical, Vine Fruits and Small Fruits and Berries) tais como melancia, uva branca, abacaxi, lichia, cantalupo, banana, laranja, maçã, pêra, limão, maracujá, uva vermelha, uva-do-monte, tamarindo, pêssego, mamão, açaí, ameixa, goiaba, tangerina, borojo, cupuaçu, goji, kiwi, etc.; esta listagem não é intencionada a limitar as frutas que são adequadas.

O vegetal, suco vegetal, purê, concentrado de suco, pó seco, ou extratos do coprocessamento podem ser obtidos de vegetais incluídos dentro dos

grupos listados pelo FDA (Form FDA 2438g (10/91) (Root and Tuber, Bulb, Leaf & Stem, Brassica, Legume, Fruiting and Curcubit Vegetables) tais como brotos-de-feijão, repolho, aipo, cebolas, cebolas doces, aspargo, quaisquer vegetais folhosos, vagens, ervilhas, couve-flor, brócolis, cenoura, abóboras, pimentões, batata, batata doce, tomate, etc.; esta listagem não é intenciona-  
5 da a limitar os vegetais que são adequados.

Os pós de grãos, soluções de grãos, pasta, ou extratos do co-  
processo podem ser obtidos de grãos incluídos dentro dos grupos listados  
pelo FDA (Form FDA 2438g (10/91) (Cereal Grains) tais como trigo, cevada,  
10 arroz, aveias, milho, sorgo, painços, centeio, fagópiro, triticale, *fonio*, e qui-  
noa, etc.; esta listagem não é intencionada a limitar os grãos que são ade-  
quados.

O pó, solução, pasta, extratos ou derivados de sementes oleagi-  
nosas, nozes, e sementes do coprocesso podem ser obtidos de tais materi-  
15 ais incluídos dentro dos grupos listados pelo FDA (Form FDA 2438g (10/91)  
(Legume Vegetables, Oilseeds, Tree Nuts) tais como feijão-soja, feijões  
vermelhos, feijões-de-lima, lentilhas, grãos-de-bico, feijões-fradinho, feijões  
pretos, favas, feijões azuqui, feijões de anasazi, amendoim, amêndoas, cas-  
tanha da faia, castanha-do-pará, nozes, avelãs, pistache, cajú, macadâmia,  
20 castanhas, noz-pecã, cocos, pinhões, sementes de abóbora, sementes de  
gergelim, sementes de girassol, semente de algodão, etc.; esta listagem não  
é intencionada a limitar os legumes, sementes e nozes que são adequados.

Os materiais vegetais de coprocesso podem ser extrato vegetal  
de cevada, extratos de gramíneas, chá e extratos de chá, algas marinhas e  
25 extratos, etc.; esta listagem não é intencionada a limitar os materiais vege-  
tais que são adequados.

Os materiais animais de coprocesso podem ser músculo esque-  
lético, órgãos não musculares, peles, ou extratos de casco de animais mamí-  
feros, aves domésticas, frutos do mar, répteis, e leite e ovos; esta listagem  
30 não é intencionada a limitar os materiais animais que são adequados.

Os materiais de coprocesso podem ser vários materiais microbi-  
anos incluindo levedura ou extratos de levedura, fungos e extratos fúngicos

incluindo cogumelos e algas e extratos de algas, etc.; esta listagem não é intencionada a limitar os materiais microbianos que são adequados.

Os materiais de coprocessamento podem ser os extratos de qualquer uma das fontes acima e podem compreender aminoácidos, polipeptídeos, 5 proteínas, ou compostos com um ou mais grupos amina primária. Solventes de extrato podem ser selecionados daqueles versados na técnica tais como água desionizada; fosfato, ou citrato, ou acetato, ou carbonato, etc., soluções tampão, soluções alcoólicas ou misturas dos dissolventes para extração acima em razões diferentes.

#### 10 Processo de Preparação para Corantes Estáveis

De modo a produzir os corantes da presente divulgação, a *Genipa americana* madura é coprocessada com outras frutas tais como melancia por métodos convencionais bem conhecidos na técnica de modo a extrair o suco da fruta. Depois da lavagem e/ou alvejamento, a fruta é descascada e 15 picada em pedaços, depois moída ou combinada com materiais de coprocessamento, extraída com ou sem aquecimento, a polpa, as sementes e o material da casca são separados por filtração, centrifugação ou prensagem e o suco purificado é coletado. O processamento pode ocorrer durante até cerca de 8 horas, preferivelmente cerca de 0,1 a 4 horas, e mais preferivelmente cerca 20 de 0,1 a 1 hora, em uma temperatura de cerca de 20 a 45°C. O suco composto obtido é submetido a aquecimento subsequente a uma temperatura mais alta de cerca de 50 a 95°C durante cerca de 1 a 4 horas com mistura adequada (por exemplo, por vibração, agitação, ou aeração) e concentrada cerca de 2 a 10 vezes usando evaporação com baixa pressão; o processamento 25 tem a vantagem de fornecer o tratamento com Juice HACCP necessário para estabilidade microbiana. A concentração também pode ser realizada em um evaporador instantâneo, por osmose reversa, ou ultrafiltração com uma membrana adequada, fornecendo assim um concentrado (tipicamente um fator de concentração de duas a dez vezes do suco expelido) a- 30 dequado para remessa comercial, e a padronização da cor resultante em uma intensidade de tonalidade e cor estável e desejada que pode ser ajustada selecionando-se a razão das frutas de *Genipa americana* para materiais

de coprocesso. A cor resultante pode ser subsequentemente seca por secagem por atomização, secagem por congelamento ou secagem a vácuo. Alternativamente, o processo de fabricação de cor pode começar com um suco ou concentrado de Huito previamente preparado ao qual o material de coprocesso é adicionado.

Esta razão de frutas de *Genipa americana* para materiais de coprocesso pode ser variada de cerca de 1:0,2 a cerca de 1:30 (em peso) dependendo da quantidade de aminoácidos e proteínas nos materiais de coprocesso, e também do tipo ou perfil dos aminoácidos. Especificamente, quando a fruta de *Genipa americana* é coprocessada com melancia fresca, a razão de fruta para melancia é de cerca de 1:1 a cerca de 1:24, e preferivelmente de cerca de 1:2 a cerca de 1:12, e mais preferivelmente de cerca de 1:3 a cerca de 1:6.

Aquecimento no processo refere-se a reações enzimáticas, desenvolvimento da cor, e estabilidade da cor. Sem desejar especificar um mecanismo de reação, acredita-se que genipina, ou gentiobiosídeo de genipina e ácido geniposídico que são hidrolisados à genipina e derivados de genipina por aquecimento ou a ação de beta-glucosidases que existem naturalmente nas frutas de *Genipa americana*, reajam com proteínas e aminoácidos nas frutas para produzir a cor resultante (Paik, Y.; Lee, C.; Cho, M.; e Hahn, T. em J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 403-432). A reação global procede lentamente em temperatura baixa ou ambiente. Para acelerar a reação, a divulgação corrente usa duas etapas de aquecimento. Primeiro, aquecimento em temperatura baixa é executado a cerca de 4 a cerca de 50°C, e preferivelmente a cerca de 20 a cerca de 45°C. A maioria das enzimas é ativa nesta faixa de temperatura, incluindo proteases que degradam proteína a aminoácidos livres, pectinases e celulases que quebram pectina e celulose. O aquecimento em temperatura baixa facilita a liberação de compostos químicos das células na solução aquosa. Segundo, o aquecimento em temperatura alta é preferivelmente a cerca de 50 a cerca de 95°C, mais preferivelmente a cerca de 55 a cerca de 90°C, e o mais preferivelmente a cerca de 60 a cerca de 85°C, com mistura. Durante esta etapa, a atividade da beta-

glucosidase é máxima, e a taxa da reação química de genipina com grupos amina primária em aminoácidos, polipeptídeos ou proteínas também é alta. Uma mudança de cor significativa pode ser observada. Calor também pode controlar reações indesejadas. Por exemplo, as enzimas endógenas polifenol oxidase e peroxidase que causam mudanças de cor e sabor indesejadas em frutas e vegetais depois da colheita e durante o processamento, podem ser desnaturadas por aquecimento criterioso. No presente processo, o regime de aquecimento contribui para uma cor resultante reproduzível, estável e desejada.

10 Aditivos do processo podem ser adicionados no processo. Enzimas, tais como beta-glucosidase ou proteases, aceleram o desenvolvimento da cor; outras enzimas, como celulase, hemicelulase e pectinase, aumentam os rendimentos de massa total do suco.

O pH no processo inventivo afeta o desenvolvimento da cor. Para produzir uma cor azul estável, o pH adequado de suco de fruta de *Genipa americana* e materiais de coprocesso, por exemplo, suco de melancia, pode ser de ácido a básico, na faixa do pH de cerca de 3 a cerca de 8, preferivelmente do pH de cerca de 3,5 a cerca de 7, e mais preferivelmente do pH de cerca de 4 a cerca de 6. Para produzir uma cor avermelhada estável, o pH de suco de fruta de *Genipa americana* é ajustado para mais do que o pH de cerca de 10, preferivelmente pH maior do que cerca de 12. Sob condições alcalinas, os compostos de iridoide são hidrolisados e perdem o grupo metila do grupo  $-\text{COOCH}_3$  na posição C-4, resultando em um grupo  $-\text{COO}^-$  na posição C-4 (US 4247698 'Red coloring composite and the method for its production' Toyama, *et al.*). Depois de manter em condições alcalinas durante um período suficiente e em uma temperatura adequada, o pH é ajustado novamente para o pH de cerca de 3 a cerca de 6, e o suco é coprocessado com outros materiais que contêm aminoácidos, polipeptídeos, ou proteínas para gerar uma cor avermelhada, ou uma cor roxa avermelhada.

30 Outros componentes nos materiais de coprocesso, tais como antioxidantes, metais multi-iônicos, açúcares de redução, compostos contendo enxofre e polifenóis, podem tomar parte em reações laterais durante o pro-

cesso. Portanto a cor de corantes estáveis naturais varia por mudança de materiais de coprocesso e processos, com uma absorção máxima do comprimento de onda 400 a 800 nm. Mais especificamente, um azul brilhante gerado pela fruta de *Genipa americana* com melancia tem uma absorção máxima no comprimento de onda de 585 a 600 nm, enquanto uma cor verde gerada por fruta de *Genipa americana* com suco de abacaxi tem absorção máxima em 590 a 610 nm e 400 a 420 nm.

Os sólidos coloridos ou materiais insolúveis em água que são obtidos durante as etapas de filtração ou centrifugação também podem ser utilizados como corantes valiosos.

#### Propriedades de Corantes Estáveis Naturais

Corantes naturais que são produzidos usando-se materiais comestíveis de *Genipa americana* e coprocessados têm absorções máximas variando de 360 a 800 nm. Especificamente, os corantes azulado-brilhantes que são produzidos a partir de suco de fruta de Genipa e suco de melancia têm uma absorção máxima em um espectrofotômetro (espectrofotômetro de UV/VIS Perkin Elmer, Lambda 20, USA) na faixa de comprimento de onda de 585 a 600 nm, dependendo da concentração dos reagentes. Os valores Lab que foram determinados em um colorímetro Hunter Color Lab (Color Quest XE, USA) são L de 20 a 40; valor de a de 5 a -2; e valor de b de -5 a -25 para corantes concentrados com um valor de cor de 2,0 a 10,0.

A estabilidade térmica de corantes alimentícios comumente usados é muito crítica para aplicações. Os corantes naturais gerados a partir desta divulgação resistem ao calor muito bem. Depois da ebulição no pH 3 durante 30 minutos, a cor azul de Genipa obtida com suco de melancia ou melancia fresca não mostra nenhuma mudança visual significativa.

#### Alimentos e produtos de bebida contendo materiais de cor

Corantes naturais com base em Genipa, especialmente cor azul, têm excelente estabilidade térmica e em pH ácido, e conseqüentemente são particularmente adequados para colorir gêneros alimentícios, fármacos, suplementos nutricionais, materiais de cuidado pessoal, cosmético, e ração para animais aplicações para substituir pigmentos sintéticos ou corantes.

Corantes naturais derivados de Genipa podem ser usados em alimentos e aplicações de fármacos depois de concentrar apropriadamente ou depois de diluir com líquidos aquosos ou solventes aprovados adequados, incluindo álcool. Dependendo do uso específico, corantes naturais derivados de Genipa, sozinhos ou misturados com outro corante ou pigmentos, podem ser usados em uma ampla faixa de aplicações alimentícias incluindo, mas não limitada a várias bebidas e bebidas alcoólicas, cereais matinais, produtos de padaria, massa/macarrão, confeitos, produtos lácteos, carne processada, aves domésticas, e produtos de frutos do mar, diferentes temperos, sorvetes, pickles, biscoitos, e assim por diante.

Os exemplos seguintes são fornecidos para o propósito de ilustrar ainda mais a presente divulgação, mas em nenhum sentido devem ser tomados como limitantes.

#### Exemplo Nº 1

Várias frutas de Huito congeladas e descongeladas foram descascadas e cortadas em pedaços pequenos. Uma parte de fruta, 116,0 g, foi misturada com duas partes de água desionizada, 232,0 g, e combinada usando um Misturador Laboratorial de alta velocidade (Waring® Commercial) durante 2 períodos de 40 segundos cada. Depois o purê de fruta combinada foi filtrado através de um papel de filtro Nº4 Whatman, e o líquido filtrado foi coletado. Beta-glucosidase (Enzyme Development Corp.) foi adicionada ao filtrado em uma quantidade de 0,10 g por 60,0 g de solução.

A cinco gramas da solução acima em um tubo de teste (25 ml), cinco gramas de materiais líquidos ou em pó de frutas, vegetal, leite, soja, e carne foram adicionados no tubo de teste, e misturados satisfatoriamente. Amostras foram deixadas repousar na temperatura ambiente durante 16 horas, e depois aquecidas até 80°C durante 0,5 a 2,5 horas até que a cor fosse estável. As amostras foram purificadas por filtração, se necessário, para remover o material insolúvel.

Mudanças de cor de materiais coprocessados antes e depois da incubação foram medidas em um colorímetro Hunter Lab (Color Quest XE, USA), e os resultados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1

Materiais de coprocesso	Antes da Reação			Aquecimento horas	Depois da Reação			Cor Visual
	L	a	b		L	a	b	
Concentrado de melancia, 65Brix	26,83	7,13	2,92	2,0	24,67	0,11	-1,38	Azul escuro
Suco de abacaxi	34,46	5,41	10,16	2,5	25,96	-0,35	-1,14	Verde floresta
Concentrado de suco de lichia, 29Brix	59,94	0,53	8,29	2,0	24,70	0,04	-1,40	Azul vibrante
Maracujá purificado, 50Brix	25,90	6,15	1,61	2,0	24,65	0,19	-0,95	Marrom escuro
Concentrado de suco de pêssego, 68Brix	23,55	0,62	-0,60	2,0	24,54	0,13	-1,04	Preto
Suco de cantalupo	33,66	5,24	6,48	0,5	24,58	0,03	-1,09	Azul escuro/roxo
Purê de banana				2,5	31,39	-0,35	-1,51	Azul acinzentado
Solução de broto de feijão verde	44,53	0,64	7,79	0,5	24,59	0,06	-1,22	Azul escuro/roxo
Suco de aipo	29,69	9,22	5,30	1,0	24,62	0,04	-1,24	Azul escuro
Pó de repolho				2,0	24,56	0,04	-1,14	Azul apurpurado
Solução de cebola amarela doce	40,00	-1,46	7,17	1,0	25,33	0,18	-1,38	Roxo acinzentado
Leite, 2%	87,80	-2,13	7,37	2,0	29,00	-1,12	-6,96	Azul brilhante cremoso
Leite de soja	79,17	0,13	8,33	2,0	27,92	-0,97	-4,44	Azul-petróleo cremoso
Pasta fluida de carne de frango	74,96	0,62	9,22	2,0	24,59	0,09	-1,03	Azul apurpurado brilhante

Exemplo N° 2

Fruta de Huito descascada e cortada em cubos, 150,0 g foram misturados com melancia fresca cortada em cubos, 1200,0 g, e preparados através de purê durante um minuto em um misturador. Depois, o purê/suco foi aquecido em um banho de água a 40°C durante uma hora. O purê/suco depois foi centrifugado a 2800 rpm durante 20 min, e o sobrenadante foi filtrado através de papel de filtro canelado. Em seguida, o filtrado foi aquecido em um banho de água quente (80°C) durante 1,5 hora; depois do que a solução ficou azul em cor. A solução azul depois foi concentrada em um Rota-vapor (Buchi, Suíça) em pressão de 40 mmHg e 50°C e rotação de 100 rpm. A amostra final que foi obtida depois de concentração a 7,5X teve um Brix

aparente de 75 a 78, e uma absorção máxima de 0,13366 em 595,79 nm em um espectrômetro (Espectrômetro de UV/VIS Perkin Elmer, Lambda 20, USA) depois da diluição a 1000X com água desionizada.

### Exemplo Nº 3

5 O produto de cor azul foi preparado a partir de 2,931 g de frutas de Huito descascadas com melancia fresca, 11,305 g, e preparado através de purê por um minuto em um misturador. O purê/suco foi agitado em uma caldeira de 20 L a cerca de 37 a 40 graus C durante uma hora depois do que ele foi filtrado para remover os sólidos por passagem através de uma tela de tamanho de malha número Nº 20 e um filtro de 5 µm em uma velocidade de bomba de 1,0 litro por minuto. O filtrado foi devolvido à caldeira limpa e aquecido a cerca de 75 a 80°C durante 1,5 hora com agitação vigorosa. A solução azul resultante foi concentrada em um Rotavapor (Buchi, Suíça) em pressão de 40 mmHg e 50°C e rotação de 100 rpm. A amostra final teve  
10 uma concentração aparente de 63,25 Brix, e uma absorção máxima de 0,57124 em comprimento de onda de 591,76 nm em um espectrômetro (Espectrômetro de UV/VIS Perkin Elmer, Lambda 20, USA) depois de diluição a 1000X com água desionizada. O processo é representado através de diagrama na figura 1.  
15

### Exemplo Nº 4

20 Teste 1 de estabilidade para aplicações de bebida em pH baixo. Uma estabilidade de vida útil acelerada de 8 semanas foi realizada em três formulações de bebida típicas: uma bebida de base láctea, uma água realçada com vitamina, e uma bebida de limonada contendo aproximadamente  
25 10% de suco. O pH das formulações estava entre 2,8 e 3,2, e a taxa de uso da preparação de cor do Exemplo 3 foi 0,05%. A condição acelerada foi uma caixa quente de 32,22°C (90° F), enquanto uma amostra de caixa fria de 4,44°C (40° F) refrigerada serviu como o controle. As amostras foram visualmente avaliadas e monitoradas quanto à mudança de cor usando um colorímetro Hunter Color Lab (Color Quest XE, USA). Os valores de DEcmc calculados representam a mudança na cor comparada ao controle com base em dados de L a b.  
30

Depois de 8 semanas, a fórmula de base láctea exibiu um desvanecimento da cor aproximado de 20 a 25% com uma mudança de azul claro para um azul mais acinzentado. A fórmula de limonada mostrou um desvanecimento da cor aproximado de 30 a 35% com acastanhamento de 20 a 25% e uma mudança de um azul acinzentado para verde. Isto foi o mais provável devido ao acastanhamento dos sucos que quando combinados com a cor azul resultaram em uma tonalidade de verde.

Depois de 8 semanas, a fórmula de água realçada demonstrou um desvanecimento da cor aproximado de 20 a 25% com acastanhamento de 20% e uma mudança leve para verde. O teste de estabilidade de luz (Atlas Suntester XLS+, filtro óptico, E 765 w/m<sup>2</sup>) consistindo em uma exposição de luz acelerada de 6 h usando luz do dia simulada apresentou menos do que 30% de desvanecimento em todas as três formulações de bebida.

Tabela 2

Bebida	Estabilidade acelerada de 8 semanas	Estabilidade da luz de 6 horas
	DEcmc (Modo RSIN)	DEcmc (Modo RSIN)
Base láctea	2,90	0,93
Limonada	4,81	1,22
Água realçada	4,00	2,39

Teste 2 de estabilidade para aplicações de bebida em pH baixo. Um teste acelerado adicional foi realizado em uma bebida contendo a cor azul fabricada de um lote de suco de cor mais concentrada. A bebida foi uma solução de açúcar-sabor ácido simples. Esta bebida apenas experienciou um desvanecimento leve de aproximadamente 5% depois de 8 semanas. O teste de estabilidade de luz apresentou muito pouca mudança de cor qualquer que seja.

Tabela 3

Bebida	Estabilidade acelerada de 8 semanas	Estabilidade de luz de 6 horas
	DEcmc (Modo RSIN)	DEcmc (Modo RSIN)
Solução de açúcar-sabor ácido	1,30	0,43

Teste 3 de estabilidade para aplicações de bebida em pH baixo. Uma ampliação de escala piloto da cor azul usando materiais localmente originados foi estabelecida em uma solução de açúcar-sabor amargo simples. Depois de 8 semanas, um desvanecimento de aproximadamente 20% foi observado. O teste de estabilidade de luz apresentou uma mudança de cor de aproximadamente 25 a 30%.

**Tabela 4**

Bebida	Estabilidade acelerada de 8 semanas	Estabilidade de luz de 6 horas
	DEcmc (Modo TTRAN)	DEcmc (Modo TTRAN)
Solução de açúcar-sabor ácido	3,37	4,17

Teste 4 de estabilidade para aplicações de bebida em pH baixo. Uma preparação comercial maior da cor azul foi estabelecida em uma bebida aquosa realçada. Isto foi estabelecido tanto com quanto sem ácido ascórbico (aproximadamente 100% RDI de Vitamina C). Depois de 8 semanas, um desvanecimento de aproximadamente 30 a 35% foi observado na amostra com Vitamina C. Esta também teve uma mudança de cor para um verde azulado. A amostra sem Vitamina C mostrou desvanecimento de aproximadamente 20 a 25% com uma mudança de cor para um azul mais purpurado. O efeito da Vitamina C sobre a estabilidade da cor é similar ao que seria esperado para outras cores da natureza tais como aquelas que são com base em antocianina. O teste de estabilidade da luz mostrou uma mudança de cor de aproximadamente 30% na formulação sem Vitamina C e menos do que 30% na formulação com. Em geral, em testes de estabilidade, o desvanecimento da cor e mudanças na tonalidade estavam dentro de limites aceitáveis para produtos comerciais e de magnitudes similares àqueles comumente conhecidos para corantes alimentícios de antocianina.

Tabela 5

Bebida	Estabilidade acelerada de 8 semanas	Estabilidade de luz de 6 horas
	DEcmc (Modo TTRAN)	DEcmc (Modo TTRAN)
Água realçada com Vitamina C	7,85	3,13
Água realçada sem Vitamina C	3,53	5,21

Exemplo N° 5

Teste de aplicação 1. A cor azul foi adicionada a uma base de sorvete típica. A cor resultante na aplicação foi uma tonalidade azul-clara.

- 5            Teste de aplicação 2. A cor azul foi adicionada a uma base de biscoito e depois assada em um forno. A cor resultante na aplicação foi uma cor azul média com um tom marrom esverdeado leve. A cor azul também foi adicionada a uma base de cereal típica. Depois de passar por um processo de extrusão comercial, a cor resultante foi um azul acinzentado. Estas cores  
10 foram examinadas depois de armazenamento no ambiente por 6 meses e mostraram pouco desvanecimento.

- 15            Teste de aplicação 3. A cor azul foi adicionada a uma base gomosa assim como uma base de pectina. A cor resultante foi um azul-escuro atraente. A taxa de uso foi reduzida na base gomosa para fornecer uma tonalidade mais clara de azul. A combinação com cores adicionais da natureza forneceu tonalidades atraentes de verde e roxo nas gomas.

Exemplo N° 6

- 20            Teste de aplicação. A cor azul foi adicionada a uma base de biscoito e depois assada em um forno. A cor resultante na aplicação foi uma cor azul média com um tom marrom esverdeado leve. A cor azul também foi adicionada à base de cereal. Depois de passar por um processo de extrusão comercial, a cor resultante foi um azul acinzentado.

Exemplo N° 7

- 25            O suco de fruta de Huito filtrado foi obtido pelo procedimento do Exemplo N° 1, mas sem a adição de beta-glucosidase. 20,0 g do suco foram misturados com 5,0 g de uma solução de NaOH a 10%. A mistura foi aque-

cida a 35 a 40°C, e deixada repousar na temperatura ambiente durante cerca de 3 horas. O pH da mistura foi ajustado para o pH 4,3 adicionando-se 2,08 g de ácido cítrico e 0,04 grama de beta-glucosidase depois foram adicionados à solução e misturados completamente.

- 5                   Cinco gramas da solução acima foram adicionados a um tubo de teste (25 ml), e cinco gramas adicionais de materiais de teste líquidos de frutas, vegetais, ou água desionizada, foram adicionados ao tubo de teste, e misturados completamente. Amostras foram aquecidas até 80 a 90°C durante 2 horas até que a cor fosse estável. Todas as amostras mostraram cores variando de avermelhado a marrom. As amostras foram filtradas, se necessário.

O comprimento de onda máximo de absorção para cada um dos corantes acima foi medido em um espectrômetro (Espectrômetro de UV/VIS Perkin Elmer, Lambda 20, USA), e os resultados são mostrados na Tabela 6.

15 Tabela 6

Materiais de teste adicionados	$\lambda$ max	Cor Visual
Concentrado de melancia, 65Brix	531,82	Marrom avermelhada
Suco de cantalupo	540,32	Marrom avermelhada
Solução de broto de feijão verde	528,66	Marrom avermelhada
Suco de aipo	538,03	Marrom avermelhada
Solução de cebola amarela doce	534,17	Marrom avermelhada
Água desionizada (controle)	576,06	Marrom avermelhada

Exemplo N° 8

- 20                   Suco de gardênia, seis gramas, foi adicionado a um tubo de teste (25 ml). Depois 0,20 g de beta-glucosidase e 0,10 g de solução de NaOH a 10% em p/p foram adicionados ao tubo de teste, e misturados completamente. O pH foi deste modo ajustado de 3,99 a 4,60. O suco de gardênia obtido foi aquecido em um banho de água de 60°C durante uma hora, depois concentrado de melancia, cinco gramas, foi adicionado e misturado completamente. A amostra de mistura foi aquecida a 70°C e mantida durante 1 hora. A cor da amostra foi convertida de vermelho a verde.

#### Exemplo N° 9

Um concentrado de suco de cor azul foi preparado misturando-se 49,4 g de fruta de Huito cortada em cubos com 50,0 g de concentrado de suco de abóbora (Diana Naturals) e 150 g de água desionizada. A mistura foi combinada em uma velocidade alta durante 2x 60 segundos. Depois, o purê/suco foi aquecido em uma chapa de aquecimento a uma temperatura de 42°C e mantido durante 30 minutos, e depois foi centrifugado a 3500 rpm durante 15 min, e o sobrenadante foi filtrado através de papel de filtro N°4 Whatman. Em seguida, o filtrado foi aquecido em uma chapa de aquecimento em uma temperatura de 60°C e mantido durante uma hora e meia. Uma cor azul desejável foi gerada com valor de L de 25,68, valor de a de 0,09, e valor de b de -3,26, medidos em um Colorímetro de Hunter. A solução azul depois foi concentrada em um Rotavapor (Buchi, Suíça) em pressão de 40 mmHg e 50°C e rotação de 100 rpm. A amostra final que foi obtida depois de concentração de 7,3X teve um Brix aparente de 67,13.

#### Exemplo N° 10

Um suco de cor azul/verde foi preparado com fruta de Huito e concentrado de suco de pimentão amarelo. Cinquenta gramas de concentrado de suco de pimentão amarelo (Diana Natural) foram misturados com 250 g de água desionizada. A solução foi aquecida até a ebulição e filtrada para remover o floculado através de um papel de filtro N°4 Whatman. O filtrado depois foi misturado com 64,5 g de fruta de Huito cortada em cubos, e a mistura foi combinada em uma velocidade alta (misturador de Waring) durante 2x 60 segundos. Uma etapa de preaquecimento ocorreu em uma chapa de aquecimento a 42°C durante 30 minutos. Depois da remoção do material insolúvel por centrifugação a 3500 rpm durante 15 min e filtração através de papel de filtro N°4 Whatman, o filtrado foi aquecido em uma chapa de aquecimento em um ajuste de temperatura de 62°C durante uma hora. Uma cor azul/verde foi gerada com valor de L de 15,87, valor de a de -2,85, e valor de b de -6,26, medidos com um Colorímetro de Hunter. A solução azul/verde depois foi concentrada em um Rotavapor (Buchi, Suíça) em pres-

são de 40 mmHg e 50°C e rotação de 100 rpm. A amostra final que foi obtida depois de concentração de 10X teve um Brix aparente de 65,2.

#### REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Endo, T. e Taguchi, H. The constituents of *Gardenia jasminoids*: Geniposide  
5 and genipin-gentiobioside. *Chem. Pharm. Bull.* 1973
- Patente US 4.878.921, Kogu *et al*, publicada em 7 de Novembro de 1989
- Sampaio-Santos e Kaplan, J. *Braz. Chem. Soc.* 12 (2001)
- Andreason e Bremer, *Am. J. Botany* 87 1731-1748 (2000)
- Form FDA 2438g (10/91)
- 10 Paik, Y.; Lee, C.; Cho, M.; e Hahn, T. em *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49,  
403-432.
- Patente US 4.247.698, Toyama *et al*, 27 de Janeiro de 1981

## REIVINDICAÇÕES

1. Método de preparar cores naturais, estáveis, resultando em uma cor que apresenta um valor  $-b$  aumentado com base na escala CIE LAB, quando a mistura definida na etapa (a) é comparada com a mistura processada definida na etapa (c),

sendo que o dito método é caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) formar uma mistura compreendendo:

(i) suco de fruta de uma planta da Família Rubiaceae, que contém uma quantidade de genipina ou derivados de genipina, incluindo gentiobiosídeo de genipina, geniposídeo, ácido geniposídico, e gardenosídeo, capazes de reagir com o suco ou material liquefeito definido em (a)(ii) para produzir um produto de cor desejada;

(ii) outro suco ou material liquefeito feito através da liquefação química ou mecânica do material sólido, de uma fonte de grau alimentício adequada selecionada dentre frutos, grãos, sementes, feijões, nozes, legumes, materiais de planta, leite, produtos lácteos, ovos, carne, frutos do mar, crustáceos, materiais microbianos e de algas, e subprodutos dessas fontes que contenham componentes capazes de fornecer a cor desejada quando combinado com o suco definido em (a)(i);

(b) processar a dita mistura usando métodos de processamento de suco convencional selecionado dentre moagem, prensagem, extração, e combinações dos mesmos, a um pH de cerca de 3,5 a cerca de 7; e

(c) estabilizar a mistura contra crescimento microbiano, oxidação, deterioração organoléptica e para prover uma cor estabilizada aplicando-se um tratamento térmico.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a fonte de genipina é Huito, *Genipa americana*.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a fonte de genipina é selecionada da fruta integral, suco de fruta, purê de fruta, suco de fruta concentrado, forma de pó seco de frutas ou suco, e parte insolúvel em água de frutas de Huito, *Genipa americana*, e com-

binações dos mesmos.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a fonte de genipina é *Gardenia jasminoides* Ellis, selecionada de fruta integral, suco de fruta, purê de fruta, suco de fruta concentrado, forma  
5 de pó seco de frutas ou suco, e partes insolúveis em água de frutas de *Gardenia jasminoides* Ellis, suas variedades ou parentes na família de *Gardenia*, e combinações dos mesmos.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a fonte de grau alimentício (a)(ii) é selecionada de concentrados,  
10 purês e formas secas, e combinações dos mesmos.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o componente (a) (ii) é selecionado de melancia, uva branca, abacaxi, tamarindo, repolho, cenoura, laranja, maçã, pêra, uva vermelha, uva-do-monte, broto-de-feijão, cantalupo, lichia, pêssego, mamão, limão,  
15 açai, ameixa, goiaba, maracujá, tangerina, borojo, cupuaçu, banana, abóbora, pimentões e combinações dos mesmos.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o componente (a) (ii) é melancia, e a cor resultante é azul.

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo  
20 fato de que o processamento inclui ajuste de pH.

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a fonte de grau alimentício (a)(ii) contém compostos nitrogenosos selecionados de aminoácidos, polipeptídeos, proteínas, e compostos com um ou mais grupos amina primária, e combinações dos mesmos.

25 10. Corante com base em suco natural estável apresentando a cor desejada, caracterizado pelo fato de que compreende uma mistura de:

(i) suco de fruta de uma planta da Família Rubiaceae, que contém uma quantidade de genipina ou derivados de genipina, incluindo gentiobiosídeo de genipina, geniposídeo, ácido geniposídico, e gardenosídeo, capazes de reagir com o suco ou material liquefeito definido em (ii) para produzir um produto de cor desejada;

(ii) outro suco ou material liquefeito feito através da liquefação

química ou mecânica do material sólido, de uma fonte de grau alimentícia adequada selecionada dentre frutos, grãos, sementes, feijões, nozes, legumes, materiais de planta, leite, produtos lácteos, ovos, carne, frutos do mar, crustáceos, materiais microbianos e de algas, e subprodutos dessas fontes  
5 que contenham componentes capazes de fornecer a cor desejada quando combinado com o suco definido em (i).

11. Corante com base em suco natural estável fabricado, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a fonte de genipina é Huito, *Genipa americana*.

10 12. Corante com base em suco natural estável fabricado, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a fonte de genipina é *Gardenia jasminoides* Ellis, selecionada de fruta integral, suco de fruta, purê de fruta, suco de fruta concentrado, forma de pó seco de frutas ou suco, e partes insolúveis em água de frutas de *Gardenia jasminoides* Ellis,  
15 suas variedades ou parentes na família de Gardenia, e combinações dos mesmos.

13. Corante com base em suco natural estável fabricado, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que o componente (ii) é melancia e a cor desejada é azul.

20 14. Produto alimentício, caracterizado pelo fato de que compreende o corante, como definido em qualquer uma das reivindicações 10, 11 e 13.

15 15. Método de selecionar uma cor desejada para ser preparada, como definida na reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que compreende:  
25

- combinar suco de Huito separado em combinações múltiplas com um ou mais sucos adicionais;

- estabilizar a mistura contra crescimento microbiano, oxidação, deterioração organoléptica e quanto à intensidade de cor aplicando-se um  
30 tratamento térmico;

- avaliar a cor gerada quanto à intensidade, tonalidade, e conformidade da tintura para a especificação desejada pelo uso de técnicas,

análises e equipamento conhecidos na técnica;

- ajustar proporções e/ou qualidade de sucos ou extratos de modo a obter a cor desejada;

5 desejada; e

- utilizar as proporções e condições identificadas de modo a fabricar corantes da cor desejada.

16. Método, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o componente (a)(ii) é melancia, e a cor resultante é azul.

Fig. 1 – Processo de Suco de Huito do Exemplo 3

