Anais do I WENDEQ - Trabalho Completo
I Web Encontro Nacional de Engenharia Química
Evento Online - 05 a 09 de julho de 2021

APLICAÇÃO DE CROMATOGRAFIA PARA ANÁLISE E SEPARAÇÃO DE CAROTENÓIDES POR CULTIVO SUBMERSO: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Camila L S Mesquita[1], Giulia T Silveira[2], Jadson G Batista[3], Maisa C Coelho[4], Josevan da Silva[5], Andrea L O Ferreira[6]

[1,2,3,4,5,6]*Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil*
(camilalsmesquita@gmail.com.)

Visando diminuir o desperdício industrial, este grupo produziu uma revisão bibliográfica que dispõe de 44 trabalhos, com operador booleano AND e descritores: cromatografia gasosa (GC) e líquida, carotenóides, manipueira, umbu, em inglês e português. Foram estudados manipueira e umbu para a biotransformação destes em carotenóides via o cultivo submerso e sua separação. Dos selecionados, 6 utilizaram GC e demonstraram que as técnicas de cromatografia são eficazes para a separação de carotenóides.

Palavras-chave: Cromatografia; Carotenóides; Manipueira; Umbu.

INTRODUÇÃO

O setor industrial alimentício e a agroindústria vêm mostrando uma quantidade imponente de poluição ambiental nas mais variadas formas (Ritchie e Roser, 2020). Em 2011, já havia estudos comprovando que a produção desses alimentos industrializados corresponde a 26% das emissões globais de efeito estufa, 70% da captação de água potável global usadas para agricultura (FAO, 2011), 78% da eutrofização global dos oceanos e águas doces (poluição das vias navegáveis com poluentes ricos em nutrientes) (Poore e Nemecek, 2018), entre outros. Visto esses números alarmantes, estudos para tratar os resíduos e diminuir desperdícios tornaram-se algo importante para a manutenção deste setor.

Outro dado inquietante foi a previsão publicada pela *Food Initiative*, um projeto da Fundação Ellen McArthur (2018), onde estimou que até 2050, 80% dos alimentos serão consumidos pelas cidades e, como consequência, poderá ocorrer uma falta de demanda mundial, o que tornará os alimentos caros e escassos.

Em virtude desta análise, este grupo de pesquisa procurou explorar, através de uma revisão bibliográfica, como a bioengenharia transforma os resíduos industriais em produtos úteis para o consumo humano e quais métodos são mais eficazes para sua análise de separação e quantificação.

Deste modo, foi estudada a obtenção dos carotenóides via cultivo submerso de resíduos agroindustriais e métodos de separação para estes. Os resíduos priorizados nesta investigação foram: a manipueira (resíduo da produção de farinha de mandioca) e a polpa de umbu (fruta encontrada em região semi-árida), largamente encontrados no nordeste brasileiro, local onde se situa o grupo de pesquisa. Além disso, a escolha destes resíduos ocorreu por causa da alta produção e descarte incorreto, que pode resultar em poluição ambiental. Foi levado também em consideração que estes rejeitos possuem grande índice de carotenóides e quando extraídos, podem ser amplamente utilizados em suplementos alimentícios, cosméticos e ração animal, que dispõe de um alto valor comercial (Santos *et al*., 2010).

Logo, os métodos escolhidos nesta revisão foram a cromatografia líquida e a cromatografia gasosa, já que estas vêm se mostrando altamente eficientes para separação e quantificação de hidrocarbonetos como os terpenóides (estrutura dos carotenóides em geral com 40 carbonos) (Uenojo *et al*., 2007). A finalidade da cromatografia neste trabalho foi isolar os carotenóides produzidos, do quais alguns são precursores da vitamina A e então, qualificá-los e quantificá-los para que, posteriormente, sejam usados para fins comerciais.

A produção do betacaroteno (um carotenoide e precursor da vitamina A) pode se tornar uma alternativa para as indústrias cosmética, farmacêutica, alimentícia e alimentação animal. Neste escopo, este trabalho pretendeu estudar a aplicação de cromatografia, gasosa e líquida, na análise de separação de carotenóides, visando a utilização destes derivados de vitamina A em alimentos, rações e/ou cosméticos.

Revisão bibliográfica

É uma técnica de estudos observacionais, estudos experimentais e análise crítica da literatura, utilizada

para sintetizar os estudos considerados primários (trabalhos publicados) (Galvão e Pereira, 2014), que são relevantes para um determinado período. Como resultado, a evidência científica em questão poderá ser utilizada como base para pesquisas futuras (Mattos, 2015).

Ademais, em um mundo globalizado onde tudo deve ser feito na maior rapidez possível, os trabalhos de revisão bibliográfica servem para otimizar o tempo das pesquisas iniciais, apresentando uma ampla visão sobre o assunto requerido. Também ajuda o pesquisador a definir, mais precisamente, o objetivo do seu estudo, selecionando a literatura relevante para a sua pesquisa. Na pesquisa científica experimental, a revisão bibliográfica fornece parâmetros de experimentos e técnicas mais utilizadas para que os processos sejam mais eficientes.

Manipueira

A manipueira é um líquido leitoso, amarelado oriundo da prensagem do processo de fabricação da farinha de mandioca brava (*Manihot esculenta Crantz*) (Hamdan, 2019). Embora seja uma matriz natural, sua composição possui altos níveis de glicosídeos linamarina e lotaustralina, além do alto valor de ácido cianídrico: 1.140 $mgkg^{-1}$ nos limbos foliares, 1.110 $mgkg^{-1}$ nos pecíolos e 900 $mgkg^{-1}$ nos caules (Silva et al., 2004; Valle et al., 2004) e isso faz com que este tubérculo adquira um caráter nocivo à saúde humana e ao meio ambiente, já que possui substâncias cianogênicas.

Mesmo sendo um resíduo industrial, sua carga orgânica contribui para que seja empregada no controle de pragas, alimentação animal, adubo agrícola entre outros (Nasu *et al*., 2008; Morais, 2006). Portanto, o emprego da manipueira como substrato para produção de biomoléculas se torna uma opção para esse resíduo. Uma alternativa é serem biotransformados por processos fermentativos como cultivo submerso.

Umbu

Umbu é uma fruta do semiárido brasileiro que possui um sabor agridoce. Sua polpa é composta por 89,9% de umidade, 7,95% de açúcares totais, 0,52% de proteínas, 0,32% de lipídios entre outros (Santana, 2017; Cavalcanti *et al*., 1996). O umbu vem se destacando dentre as frutas consumidas no Brasil, por possuir uma grande fonte de vitamina C com valores de 79 mg em cada 100 g de casca, aproximadamente 84 mg em cada 100 g de polpa comercial, além de possuir capacidade antioxidante (Ribeiro *et al*., 2019).

O umbu pode ser consumido tanto em sua forma *in natura*, quanto na forma processada industrialmente para a produção de geleias, doces, sucos, picolés e bebidas artesanais (Embrapa, 2020). Sendo assim, o umbu revela-se uma fruta com ótimo potencial de consumo e suas propriedades estão sendo largamente estudadas. Entretanto, devido a sua grande produção durante sua safra, muito dessa fruta é perdida e é totalmente descartada, por isso o umbu mostra-se como um promissor meio de cultivo para produção de carotenoides dentro da propriedade rural, onde o pequeno produtor não tem capital para escoar e/ou estocar sua produção.

Cromatografia

É uma técnica analítica utilizada para separação e caracterização de substâncias. A palavra cromatografia vem do grego: *Kroma* (cor) e *Graphia* (escrever) (Pacheo et al., 2015). Os primeiros indícios foram obtidos através da observação da natureza, onde cada substância poderia ser identificada de acordo com a cor que apresentava. Segundo Pacheco *et al*., (2015), esta observação foi se fundamentando ao examinar outros fenômenos. Hoje, a cromatografia é a utilização de método físico-químico que separa substâncias, onde os constituintes da amostra são particionados em duas fases: uma estacionária e outra que escoa através da primeira (fase móvel) (Ciola, 1985). A Figura 1 representa como a substância se separa.

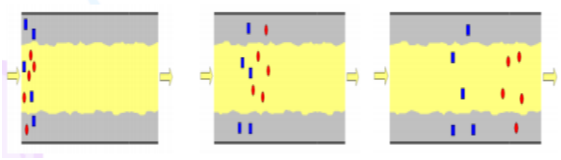


Figura 1. Separação na coluna cromatográfica.

O estudo sobre cromatografia é extenso e sempre atual. Revistas científicas inteiras se dedicam ao tema. A cromatografia, aqui neste trabalho, foi caracterizada de acordo com a interação entre a substância dissolvida com a fase estacionária (Mesquita, 2019). Dentre os principais tipos de cromatografia, tem-se: adsorção, partição, troca iônica e exclusão molecular.

Cromatografia Líquida

É o método analítico responsável pela separação de misturas que contém muitos compostos similares (Ciola, 1985), também conhecida como cromatografia de alta eficiência, CLAE, (em inglês high performance liquid chromatography, HPLC). A cromatografia líquida é amplamente utilizada para quantificar, qualificar e separar substâncias, graças a sua alta velocidade, precisão e eficiência (Maldaner *et al*., 2008).

Na fase estacionária podem ser utilizados compostos sólidos ou líquidos. Os sólidos normalmente são substâncias absorventes, tais como, sílica, carvão ativo etc., que se encontram “empacotadas” em uma coluna, a qual é atravessada pela fase móvel. Nesse caso a base

para a separação de misturas é chamada de adsorção (Mesquita, 2019). Quando a fase estacionária é composta por um líquido, este é denominado de película delgada, sendo que nesse caso a base de separação de misturas é denominado de partição. Este tipo de cromatografia líquida é baseado nas diferenças de solubilidade dos componentes na fase estacionária (líquido) e na fase móvel (líquido). Quando a separação acontece com íons e/ou moléculas polares com base na afinidade da fase estacionária (coluna), chama-se este tipo de cromatografia de troca iônica. É a troca de íons de mesmo sinal entre uma solução e um corpo sólido muito insolúvel.

Os dois tipos de cromatografia iônica são troca aniônica e troca catiônica. Já a cromatografia por exclusão de tamanho separa as moléculas da amostra que está sob análise de acordo com a sua diferença de tamanho. Ela também é chamada de cromatografia de filtração de gel ou de permeação em gel. Este tipo de cromatografia líquida separa as moléculas pelo tamanho, com as maiores moléculas da amostra passando por ela com maior velocidade.

Cromatografia Gasosa

Consiste em um método de separação e determinação de substâncias, onde a principal característica deste composto é ser volátil ou semi-volátil. A forma de separação consiste em duas fases: uma fase móvel (gasosa) e uma fase estacionária (sólida ou líquida) (Collins *et al*., 2006).

Inicialmente, esta técnica era utilizada apenas para compostos voláteis, termicamente estáveis com ponto de ebulição até 300ºC (Lanças *et al*., 1993). A Figura 2 demonstra como a cromatografia gasosa era utilizada como método de separação, por volta de 1952, quando teve seu início.

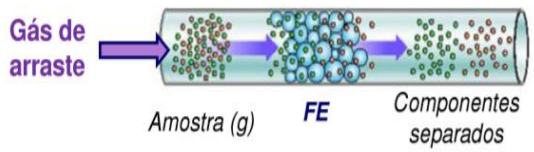


Figura 2. Separação dos componentes via cromatografia gasosa.

Neste tipo de cromatografia, o sistema de injeção da amostra a ser analisada funciona vaporizando os componentes e, de acordo com suas propriedades físico-químicas e estruturais, são retidos ou eluídos através da coluna em tempos diferentes (Ciola, 1985). Na Figura 3 é apresentado um sistema simplificado do cromatógrafo gasoso, onde pode ser observado todo o percurso, desde a injeção da amostra, até o cromatograma final. Onde também é possível verificar a disposição dos equipamentos.

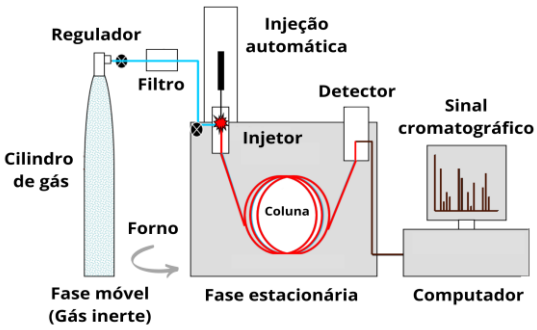


Figura 3. Esquema de funcionamento da cromatografia gás.

Gases de arraste

Os gases de arraste ou fase móvel da cromatografia gasosa, geralmente utilizados são hélio, argônio, hidrogênio e nitrogênio, sua pureza deve ser ≥ 99,99%, não podem interagir com a amostra, precisam necessariamente serem inertes e compatíveis com os detectores (Ciola, 1985). Para manter a qualidade da análise, é recomendado que se utilizem filtros de sílica gel entre o cilindro e o instrumento, uma vez que esta auxiliará na eliminação dos traços de água e hidrocarbonetos, já que estes podem alterar a resposta do detector em amostras de nível traços (Mesquita, 2019; Collins *et al*., 2006).

Controladores de vazão

Como a vazão diminui com a temperatura, o controle de vazão se faz necessário. Vazões altas, danificam o equipamento (Ciola, 1985). A Figura 4 mostra como e onde o controlador de vazão deve ser conectado.

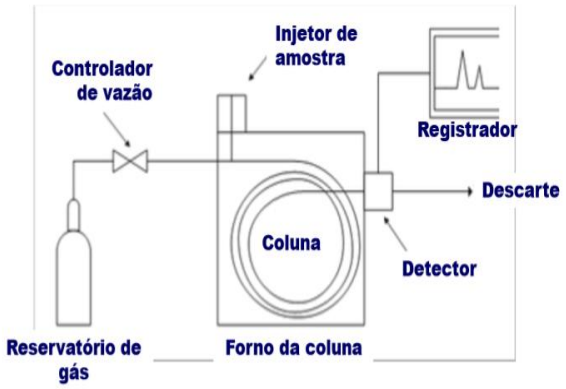


Figura 4. Controladores de vazão.

Sistema de injeção da amostra

O injetor é onde a amostra entra no equipamento e é vaporizada. É importante que a amostra vaporize, mas não se decomponha e essa temperatura deve estar acima da temperatura de ebulição do componente menos volátil (Ciola, 1985). A injeção pode ocorrer manualmente ou por um sistema automatizado.

On-Column Injetor (OCI)

Neste sistema de injeção, as amostras são injetadas diretamente na coluna, à frio, recomendado para compostos termicamente instáveis.

Programmed Temperature Vaporizing (PTV) Injector

É utilizado para amostras com alto ponto de ebulição, que sejam termicamente instáveis. A injeção é realizada à frio e é recomendada para grandes volumes.

Injetor Split/Splitless

Injeção com vaporização (a quente). *Split*- Chamada de divisão de fluxo. Deve ser injetado entre 0,1 a 10% da amostra. Empregada comumente em análises e é recomendada para grandes volumes. *Splitless*- Não divide o fluxo. Ideal para análises de nível traço. Dilui-se a amostra em um solvente com baixo PE e injeta a amostra a uma temperatura 40 °C abaixo deste ponto. Após a condensação do solvente, a temperatura da coluna é aumentada e inicia-se a separação. O volume injetado vai depender do tipo de coluna: Capilar: até 0,25mm (0,01 a 3) µL de amostra líquida. Empacotada: até 3,2 mm (0,2 a 20) µL de amostra líquida.

Colunas

Empacotada - São tubulares, empacotada, os tubos são empacotados com fase estacionária de material uniforme, finamente dividida ou, com suporte sólido recoberto com uma fina camada de fase líquida estacionária. O suporte sólido de uma coluna empacotada tem como papel manter a fase estacionária líquida no lugar para que uma área suficientemente grande seja exposta à fase móvel. Possui comprimento 0.5-5m (Max 2m), diâmetro externo 2-4mm, enchimento de 0.5 a 25% de fase líquida (NASCIMENTO *et al*., 2018).

Capilares - As colunas capilares contêm uma FE líquida ou sólida recobrindo suas paredes internas. (NASCIMENTO *et al*., 2018). Geralmente são feitas de aço inoxidável, vidro ou sílica fundida, SiO_2, com recobrimento de um material protetor (poliimida). Possui comprimento entre 12-60m, diâmetro externo 0.1, 0.22, 0.32, 0.53mm, material: sílica fundida, metal inerte.

Sinal

O sinal cromatográfico relaciona as áreas/altura do pico com a concentração do injetado (amostra). Para se fazer uma análise quantitativa, é necessário se fazer um padrão analítico para comparação (Lanças *et al*., 1993). Assim, após a calibração do equipamento e com seus respectivos padrões de substâncias, é possível levantar a curva analítica da amostra desejada. A Figura 5 mostra sinais de cromatogramas típicos.

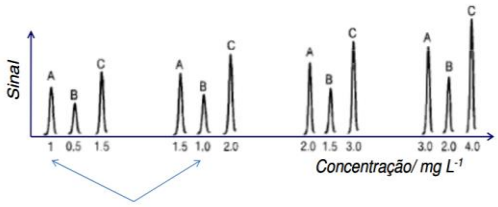


Figura 5. Picos cromatográficos.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta investigação foi realizada na forma de revisão bibliográfica, utilizando a base de dados Web of Science (WoS) e o operador booleano AND, que atuava na correlação simultânea dos termos escolhido como descritores. A base de dados supracitada foi escolhida por ser confiável e ter convênio com a instituição em que o grupo de pesquisa está localizado.

Os descritores aplicados foram: cromatografia gasosa, cromatografia líquida, carotenóides, manipueira, umbu, cromatografia e lipídeos. Aplicando de maneira síncrona os descritores com os operadores booleanos, obtiveram-se as formações, cromatografia gasosa AND carotenóides, cromatografia gasosa AND manipueira, cromatografia gasosa AND manipueira AND carotenóide, cromatografia gasosa AND umbu, cromatografia gasosa AND vitamina A, cromatografia líquida and carotenóides, cromatografia líquida AND manipueira, cromatografia líquida AND umbu. Também foram utilizados os descritores em inglês gas chromatography AND carotene e HPLC AND carotene.

Foram pesquisados artigos na língua portuguesa e inglesa e encontrados 44 trabalhos, com publicações de 2018 a 2020. Os recursos utilizados foram de maneira virtual, ou seja, a busca realizada nos sites das bases de dados, onde na barra de pesquisa foram inseridos o operador booleano com seus respectivos descritores e assim, foram obtidas as quantidades de artigos com os temas e selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. A busca ocorreu no período de março de 2020 até julho de 2020.

Como critérios de exclusão adotados: artigos anteriores a 2018, substâncias que não pertencessem às classes de carotenóides e/ou lipídios, que não continham manipueira, umbu, cromatografia líquida e gasosa. Também foram analisados os títulos das obras, para que fosse verificado a semelhança ou importância para o trabalho.

Esta revisão foi organizada na seguinte ordem cronológica:

1. Busca realizada nas bases de dados;
2. Separação dos trabalhos por data de publicação;
3. Exclusão de artigos duplicados e/ou muito antigos;
4. Priorização para artigos com títulos mais atrativos ao projeto e que viessem a contribuir de maneira positiva para a pesquisa;
5. Confronto dos resultados mais relevantes para esta investigação;
6. Organização dos dados obtidos.

Deste modo, os trabalhos mais relevantes foram selecionados utilizando os critérios de inclusão e exclusão, adotando a ordem cronológica supracitada. Por fim, os resultados foram confrontados para que se tivesse uma base para a interpretação dos resultados obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a pesquisa na base de dados supracitada, foi possível identificar a seguinte quantidade de trabalhos, segundo a Tabela 1:

Tabela 1. Trabalhos encontrados na base de dados utilizando os descritores e os operadores booleanos.

Base de dados	Descritores	Ano	Quantidade de trabalhos
Web of science	Cromatografia gasosa AND carotenoides	2019	03
		2018	08
	Cromatografia AND manipueira	2020	01
		2019	03
		2018	00
	Cromatografia AND umbu	2020	02
		2019	06
		2018	11
	Cromatografia AND carotenoides	2019	01
	Cromatografia AND lipídeos	2019	01
		2018	01
Web of Science	Gas chromatography AND carotene	2019	02
	HPLC AND carotene	2019	02
		2018	03
Total			**44**

Dos trabalhos encontrados

Admitindo-se os critérios de exclusão adotados anteriormente, foi possível obter os seguintes resultados para esta investigação:

Admitindo-se o tema do trabalho como carotenóides encontrados em manipueira, umbu e carotenóides diversos que utilizassem o método de cromatografia gasosa e/ou líquida como técnica de quantificação, encontraram-se 6 trabalhos. Para a quantificação e qualificação de umbu e manipueira o levantamento deste período apresentou que a cromatografia gasosa tomou espaço nas publicações como método principal de quantificação, conforme mostrado na Figura 6.

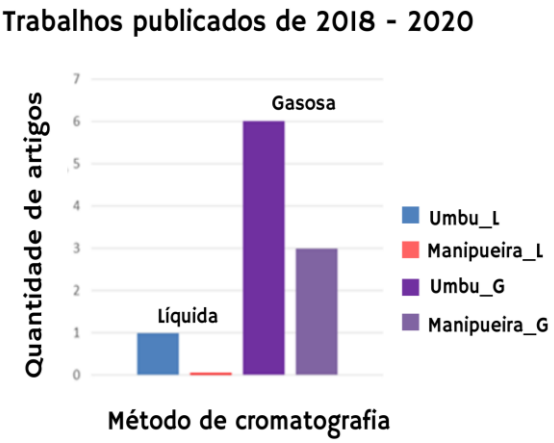


Figura 6. Técnicas de quantificação para umbu e manipueira.

Pode-se observar que dos 44 artigos obtidos no período de 2018 a 2020 contendo manipueira, umbu e cromatografia gasosa e/ou líquida, tanto para o umbu quanto para a manipueira, a técnica de cromatografia gasosa mostra-se mais utilizada pelos autores. Destes, 6 retrataram o uso da técnica de cromatografia gasosa em análise de umbu e 3 retrataram a mesma técnica para análise de manipueira.

Para os carotenóides

Com base nestes artigos publicados, pode-se dizer que a cromatografia líquida ainda é utilizada de maneira

corriqueira para as análises de quantificação de carotenóides (Aquino *et al*., 2018; Deus *et al*.,2018; Oliveira *et al*., 2019), no entanto, a cromatografia gasosa vem se apresentando uma técnica alternativa bastante eficiente em termos de quantificação (Souza *et al.*, 2018; Aquino, 2018; Santos *et al*., 2019). Para que a investigação em cromatografia gasosa seja mais eficiente, é necessário que se transforme a molécula em algo mais volátil e estável (Santos *et al*., 2019), já que ela pode ser degradada no instante da aplicação no cromatógrafo e por possuir um ponto de ebulição relativamente baixo, onde parte da sua molécula com anéis aromáticos se convertem rapidamente em outras substâncias.

Separação por cromatografia gasosa

A separação efetuada por cromatografia gasosa e líquida são chamadas de separação por partição, uma vez que são baseadas nas diferenças de solubilidade dos componentes na fase estacionária (líquido/sólido) e na fase móvel (líquido/gás). Para Santos *et al*., 2019, a análise foi efetuada em GC × GC / qMS em um sistema Shimadzu GC × GC / qMS que consiste em um cromatógrafo de gás GC2010 e um espectrômetro de massa quadrúpolo QP2010 Ultra (Shimadzu Corp., TYO, Japão). O espectrômetro de massa foi operado a 70 eV no modo de varredura rápida (20000 Daltons por s) ao longo de uma faixa de 40-250 m / z, dando uma taxa de aquisição de 65 Hz.

O sistema foi fornecido com um modulador tipo loop (Zoex Corp., TX, USA) resfriado com nitrogênio líquido e com tempo de pulso de jato quente ajustado em 375 ms (300 ° C) com tempo de modulação de 5 s. As separações foram obtidas em uma coluna analítica DB-5 (5% fenil metil-polissiloxano, Agilent Technologies, CA, EUA) (60 m × 0,25 mm × 0,25 µm) como primeira dimensão (1D). A coluna de segunda dimensão (2D) era uma coluna analítica DB-17 (50% fenilmetil-polissiloxano, Agilent Technologies, CA, EUA) (2,15 m × 0,18 mm × 0,18 µm). As temperaturas foram definidas da seguinte forma: 40 ° C (manter 5 min), aumentada para 115 ° C (3 ° C min − 1) e, em seguida, para 175 ºC (2 ºC min − 1) e finalmente 246 ° C (3 ºC min − 1) -1) (mantenha 10 min). O injetor, a fonte de íons e a temperatura da interface foram mantidos em 250 ° C.

As amostras foram injetadas no modo split (1:20) e a taxa de fluxo do gás de arraste (hélio) foi de 0,91 mL min – 1. Para Visentin (2020), após um tratamento da amostra com 1 mL de hexano e 3 mL de água MiliQ, foi pipetada para um Eppendorf e adicionado 1 mL de água MiliQ para novamente coletar a fase orgânica, garantido a coleta de todo material. A amostra final foi transferida para um vial de GC -FID Shimadzu Modelo GC-2010 Plus®1 em que foi analisada.

O equipamento opera com um auto injetor e com uma coluna RTX-Wax de 30 m com diâmetro interno de 0,25mm e espessura de filme de 25 µm. Uma alíquota de 1 µL da amostra foi injetada em modo splitless, com a porta de injeção a 250 ºC e o detector a 300 ºC. A temperatura do forno utilizada seguiu-se em: 50 °C por 1 minuto, 25 °C por minuto até 200°C, e por fim 3 °C por minuto até 230 °C. Utilizou-se o padrão Supelco 37 component FAME mix (CRM-47885) para identificar os picos. A área relativa de cada pico de interesse (metil-ésteres) foi empregada como medida indireta para a quantificação de cada ácido graxo. Para Costa (2020) as amostras foram analisadas num cromatógrafo (Varian 3800), equipado com detector de ionização à chama (FID) e coluna capilar (Supelcowax 10, comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,32 mm e espessura de filme de 0,25 µm) nas seguintes condições: temperatura inicial da coluna de 60ºC (2 min); taxa de aquecimento de 10ºC/min até 200ºC, seguida de taxa de aquecimento de 5ºC/min até 240ºC (7 min); temperatura do injetor de 250ºC; temperatura do detector de 250ºC; pressão do gás de arraste (hélio - N50) de 6,0 psi; volume de injeção de 1 µL. Para Hamdan (2019), a análise foi realizada utilizando um cromatógrafo GCMS-QP2010 (Shimadzu, Kyoto, Japan) equipado com uma coluna Durabound DB-23 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm.

A temperatura do injetor e do detector foram fixados em 230 °C e temperatura da coluna em 90 °C. O gradiente de eluição na coluna foi de 90 a 150 °C (10 °C/min), 150 a 200 °C (5 °C/min), 200 a 230 °C (3 °C/min) em um tempo total de corrida de 34 min, utilizando hélio como gás de arraste vazão de 187,2 mL/min.

Em todos os trabalhos aqui citados, as análises de lípídios (também na forma de carotenoides), ácidos graxos e ésteres metílicos foram analisados e separados em cromatógrafos de colunas cromatográficas do tipo capilar, com uma fase estacionária apolar, isso faz com que o analito de maior interação permaneça retido na coluna enquanto o menos interativo flua com o gás de arraste. Como a amostra líquida precisa estar na fase de vapor para ser analisada, a temperatura do injetor é fundamental nesta etapa, então, foram mantidas a uma temperatura de 250ºC no injetor em 2 trabalhos e 230ºC em apenas 1 trabalho. É importante que a amostra vaporize, mas não se decomponha e, essa temperatura deve estar acima da temperatura de ebulição do componente menos volátil (Ciola, 1985). Nota-se também que os autores descreveram o pré-tratamento de amostra com processos derivativos como: transesterificação e sililação, uma vez que as moléculas lipídicas (como a dos carotenoides) precisam ser volatilizadas para serem separadas por cromatografia gasosa. Deste modo, tanto na extração dos carotenoides como no

pré-tratamento da amostra, os procedimentos são realizados em locais de pouca luminosidade e baixas temperaturas, já que sob a influência da luz, observaram que o betacaroteno sofre rápida degradação. Após 30 min de exposição, a concentração de betacaroteno se reduz à metade da concentração inicial (UENOJO, *et al.*,2007). Ao que se pode perceber, o cromatógrafo acoplado à espectrometria de massas é amplamente utilizado para uma separação e detecção de amostras de nível traço e apresenta picos bem definidos, sendo possível a identificação e quantificação dos compostos, trazendo confiabilidade para a análise. Todos os trabalhos citados fizeram análise de lipídeos e/ou ácidos graxos oriundos de microalgas e/ou biomassa de produtos e resíduos alimentícios.

Sobre a manipueira

A manipueira é um efluente hidropônico que tem sido estudada de maneira diversificada, principalmente para a remoção dela do meio ambiente (Costa, 2018), já que é um poluente orgânico largamente utilizado como adubo e pesticida natural (Visentin, 2020; Araújo *et al*., 2018). Como a manipueira é rica em N, P, K, Ca, S, Mg, Fe e lipídeos como o betacaroteno, pode ser transformada e utilizada para fins cosméticos, ração animal e produção de biocombustíveis (Costa, 2018; Visentin, 2020). Os estudos atuais mostram que essa transformação vem sendo empregada utilizando microalgas (Costa, 2018; Hamdan, 2019) e biotransformação através de leveduras, principalmente da subfamília das *Rhodotorulas*. As publicações apresentaram boas conversões da biomassa em produtos de interesse, como o betacaroteno entre outros.

Sobre o umbu

A fruta típica do nordeste brasileiro vem sendo investigada por seu grande número de vitamina C, potássio, sódio, betacaroteno entre outros. Assim, diversas aplicações estão sendo feitas no ramo industrial (fonte). Segundo Correa (2018), o umbu é um potencial antimicrobiano graças a sua composição química. Também é considerado uma grande fonte de rotina (composto fenólico estudado para a prevenção de doenças crônicas), com 162,4 mg/Kg. Possui também atividades anticâncer (Guedes, 2018). Por possuir uma diversidade de compostos fenólicos em sua composição, as propriedades do umbu vêm sendo quantificadas através de cromatografia líquida e gasosa (Guedes, 2018; Santos, 2018). Eventualmente, as amostras que foram analisadas em cromatografia gasosa para determinação de carotenoides passaram por tratamento prévio (Soares, 2019; Deus et al., 2018).

CONCLUSÃO

O trabalho mostrou que nestes últimos dois anos, tem-se estudado sobre a separação, detecção e quantificação de carotenoides em diversas matrizes para diferentes finalidades. Novas tecnologias vêm sendo aplicadas para o avanço da qualidade dos cromatógrafos gasosos, mostrando a técnica bastante promissora em análises de lipídios e ácidos graxos obtidos de biomassa alimentícia. Não foram encontrados trabalhos sobre cultivo submerso nestes dois anos.

Apresentou também que rejeitos industriais estão sendo transformados de maneira efetiva, o que ajuda o meio ambiente e otimiza o meio de produção, já que estes resíduos podem ser rentáveis e, por fim, que as técnicas de cromatografia líquida e gasosa possuem um papel importante na separação e quantificação de carotenóides. Esses dois métodos conseguiram apresentar resultados satisfatórios de análise e quantificação. Como sugestão de estudo destacam-se a quantificação e qualificação dos carotenoides produzidos no cultivo utilizando manipueira e a quantificação e qualificação dos carotenoides obtidos no cultivo utilizando polpa de umbu.

Embora a manipueira e o umbu sejam produzidos largamente, os dois últimos anos mostraram que houve um aumento nas pesquisas relativo ao tema, o que torna a pesquisa deste grupo mais relevante.

AGRADECIMENTOS

A UFPB pela bolsa de Iniciação científica e ao LASOM/UFPB por disponibilizar um dos seus doutorandos.

REFERÊNCIAS

AQUINO, C.F. et al. **Carotenoids in the pulp and peel of bananas from 15 cultivars in two ripening stage**.Ceres, Viçosa, v. 65, n.3, p. 217-226, mai/jun, 2018.

BIBLIOGRAPHY MORAIS, F. L. D. **Carotenoides: Características químicas e biológicas**. Especialização (Especialização em qualidade em alimentos) - CET. Brasília, p. 3-7. 2006.

CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M.; BRITO, L. T. L. Anais do XXXIV Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural, Aracajú, Brasil, 1996.

CHRISTÉ, R. C.; *et al.* **Determinação de cianeto durante as etapas de processamento da farinha de mandioca do grupo seca.III Seminário de Iniciação Científica da UFRA e IX da Embrapa Amazônia Oriental**. UFRA. Belém. 2005.

CIOLA, R**. Fundamentos de cromatografia a gás**. Editora Edgard Blücher Ltda. 2ª edição. São Paulo. P. 1-5,1985.

CORREA, S.J.C. **Contribuição do conhecimento popular para a descoberta de novos antimicrobianos**. UFPE. Recife-PE: Tese (Doutorado em ciências farmacêuticas). 2018.p.158.

COSTA, A.G.**Efeitos de diferentes condições físicas e efluentes agrícolas sobre o cultivo de microalgas da família scenedesmaceae como subsídio à aplicação biotecnológica**.UFES. Espírito Santo: Tese (Doutorado em biologia vegetal), 2018.p74.

DEUS, V.L. *et al.* **Influence of drying methods on cocoa (Theobroma cacao L.): antioxidant activity and presence of ochratoxin A.** Food Sci. Technol, Campinas, 38(Suppl. 1): 278-285, Dec. 2018.

ELLEN MACARTHUR FOUNDATION-**O papel dos restaurantes em um sistema circular dos alimentos.** 2018. Online. https://www.ellenmacarthurfoundation.org/pt/economia-circular-exemplos/restaurantes-circulares. Acesso em: 03/06/2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) - **Prosa rural-Expansão comercial do umbu a partir das primeiras cultivares brasileiras.** Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias//noticia/50383763/prosa-rural---expansao-comercial-do-umbu-a-partir-das-primeiras-cultivares-brasileiras?p_auth=ZVswbEcX. Acesso em: 25/07/2020.

FAO no Brasil. **Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura**, 2017. Disponivel em: http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/es/c/1035189/. Acesso em: 5 dez. 2018.

GUEDES, J.A.C**.Estudo do perfil metabolômico de folhas de cajazeira,umbuzeiro e abacaxizeiro e sua correlação com potencial atividade anticâncer por meio de análise multivariada**.UFC. Fortaleza-CE:Tese (Doutorado em Química Analítica), 2018.p.156.

HAMDAN, V.P.T.**Cultivo de microalgas em soro de fécula de mandioca.**UFCG.Campina Grande-PB. Tese(Doutorado em engenharia química),2019.p.31.

HAYMAN, E. P. *et al*., **Carotenoid biosynthesis in Rhodotorula glutinis**. Journal of Bacteriology, v. 120, p. 1339- 1343,1974

KOT, A. M, K *et al*. **Rhodotorula glutinis—potential source of lipids, carotenoids,and enzymes for use in industries.** Appl Microbiol Biotechnol, Nowoursynowska, Marsaw- Poland, p. 02-776, May 2016. ISSN 100:6103–6117.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia em Fase Gasosa**. 1. ed. São Carlos: Acta Eventos, 1993. v. 1. 240 p.

MALDANER, L. *et al.* **O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência**. Química Nova, Campinas, v. 32, n. 1 p. 214-222, 2008.

MESQUITA, C.L.S**. Separação e análise de carotenóides por cromatografia para a produção de derivados de vitamina A**.UFPB.João Pessoa-PB: Relatório de iniciação científica (PIBIC em engenharia química), 2019.p.22.

NASU, E. G. C. *et al* **Composição química da manipueira e sua potencialidade no controle de pragas Melodoigyne incógnita em tomateiro no oeste do Paraná**. UNIOESTE.Paraná: Dissertação (Mestrado em agronomia), 2008. p. 21.

NASCIMENTO, Ronaldo F do. et al. Cromatografia gasosa [recurso eletrônico]: aspectos teóricos e práticos. - Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018.

OLIVEIRA, H.A.B. et al. **Nutritional value of non-conventional vegetables prepared by family farmers in rural communities.**Ciência Rural,Santa Maria, v.49, n.8, 2019.

PACHECO, S.*et al*..**História da Cromatografia Líquida** .Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (4), 1225-1271.2015.

POORE, J., & NEMECEK, T. **Reducing food's environmental impacts through producers and consumers**. Science, 360(6392), 987-992. 2018.

RIBEIRO, E. P. & SERAVALLI, E.A.G**; Química dos alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. Ed. Edgard Blücher Ltda, 1ª edição, São Paulo, p. 150-157, 2004

RIBEIRO, L.O. et al. **Nutrients and bioactive compounds of pulp, peel and seed from umbu fruit.s of pulp, peel and seed from umbu fruit**.Ciência Rural,Santa Maria, v.49, n.4, 2019.

RITCHIE, H. ROSE, M. **Environmental impacts of food production. Our** World in Data.Online.2020.

Disponível em: https://ourworldindata.org/environmental-impacts-of-food. Acesso em:21/07/2020.

ROCHA, K.R. **Biossíntese de lipídeos por Rhodotorula mucilaginosa CCT7688 a partir de hidrolisado de cascas de soja**. UFRG. Rio Grande do Sul.Dissertação (Mestrado em engenharia química), 2019.p.97.

SANTANA, C. A. S. **Produção de carotenóides via cultivo submerso utilizando o fruto do umbuzeiro (*spondias tuberosa arr. Cam*.).** IFBA.Vitória da Conquista: Dissertação (Mestrado em Biociências), 2017. p. 49.

SANTOS, M.A. dos. **Toxicidade cianogênica em partes da planta de cultivares de mandioca cultivados em Mossoró-RN**. Revista Ceres, v.51, p.56-66, 2004.

SANTOS, M.B. *et al*..**Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (spondias tuberosa x s. mombin) provenientes do recôncavo sul da bahia**.Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1089-1097,2010.

SEQUINEL, R. *et al*. **Cromatografia gasosa ultrarrápida: uma visão geral sobre parâmetros, instrumentação e aplicações**. Química Nova, Araraquara, v. 33, p. 2226-2232, 2010. ISSN 10.

SILVA, G.G.C. da.*et al*..**Toxicidade cianogênica em partes da planta de cultivares de mandioca cultivados em Mossoró-RN**. Revista Ceres, v.51, p.56-66, 2004.

SOARES, J.C**. Composição e atividade biológica *in vitro* e *in vivo* de frutas nativas brasileiras.**Escola Superior de Agricultura-USP.Piracicaba-SP: Tese(Doutorado em Ciência e tecnologia de alimentos),2018.p.156.

UENOJO, M. *et al***. Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma**. Quim. Nova, Vol. 30, No. 3, 616-622, 2007.

VALLE, T.L.; CARVALHO, C.R.L.; RAMOS, M.T.B.; MÜHLEN, G. S; VILLELA, O.V. **Conteúdo cianogênico em progênies de mandioca originadas do cruzamento de variedades mansas e bravas.Bragantia**, v.63, p.221-226, 2004.

VISENTIN, T.G.**Produção de bioprodutos a partir do cultivo batelada e batelada alimentada de *Phormidium autumnale* em vinhaça de cana-de-açúcar**.UFSCAR.Araras-SP.Dissertação (Mestrado em agricultura e meio ambiente), 2020.p.20.

WEIL, J.H. **Bioquímica Geral**. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 2ª edição. P.316, 2000.

WINTERHALTER, P., *et al*. **Em Carotenoid-Derived Aroma Compounds; Wintherhalter, P.; Rouseff, R.** eds; American Chemical Society. Washington D. C: [s.n.], 2002. Cap. 1.