

**INSTITUTO FEDERAL
GOIANO**
Câmpus Rio Verde

ENGENHARIA QUÍMICA

OBTENÇÃO DE PADRÕES ANALÍTICOS DE CAROTENOIDES POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PELO GRAU DE PUREZA EM UV/VIS

ANNE CANDIDA DE CARVALHO

Rio Verde - GO

2025

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
ENGENHARIA QUÍMICA**

**OBTENÇÃO DE PADRÕES ANALÍTICOS DE CAROTENOIDES POR
CROMATOGRAFIA EM COLUNA E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PELO
GRAU DE PUREZA EM UV/VIS**

ANNE CANDIDA DE CARVALHO

Trabalho de curso apresentado ao Instituto Federal Goiano-*Campus* Rio Verde, como requisito parcial para obtenção do Grau de Bacharel em Engenharia Química.

Autora: Anne Candida de Carvalho

Orientador Prof. Dr. Celso Martins Belisário

Rio Verde - GO

2025

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBI**

C331o Carvalho, Anne Candida de
OBTENÇÃO DE PADRÕES ANALÍTICOS DE CAROTENOIDES
POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA E VALIDAÇÃO DO
MÉTODO PELO GRAU DE PUREZA EM UV/VIS / Anne
Candida de Carvalho. Rio Verde 2025.

32f. il.

Orientador: Prof. Dr. Celso Martins Belisário.
Tcc (Bacharel) - Instituto Federal Goiano, curso de 0220354 -
Bacharelado em Engenharia Química - Integral - Rio Verde
(Campus Rio Verde).

1. Espectrofotometria UV-Vis. 2. *Byrsonima crassifolia*. 3.
 β -caroteno. 4. Compostos bioativos. I. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

<input type="checkbox"/> Tese (doutorado)	<input type="checkbox"/> Artigo científico
<input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado)	<input type="checkbox"/> Capítulo de livro
<input type="checkbox"/> Monografia (especialização)	<input type="checkbox"/> Livro
<input checked="" type="checkbox"/> TCC (graduação)	<input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento
<input type="checkbox"/> Produto técnico e educacional - Tipo:	<input type="text"/>
Nome completo do autor:	Matrícula:
<input type="text" value="Anne Candida de Carvalho"/>	<input type="text" value="2020102203540295"/>
Título do trabalho:	
<input type="text" value="OBTENÇÃO DE PADRÕES ANALÍTICOS DE CAROTENOIDES POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PELO GRAU DE PUREZA EM UV/VIS"/>	

RESTRICÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O (a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

/ /
Local Data



Documento assinado digitalmente
ANNE CANDIDA DE CARVALHO
Data: 28/06/2025 20:59:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais 

Documento assinado digitalmente
CELSO MARTINS BELISARIO
Data: 30/06/2025 08:48:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 10/2025 - CCLQUI-RV/GGRAD-RV/DE-RV/CMPRV/IFGOIANO

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos vinte e quatro dias do mês de junho de 2025, às 14 horas e 00 minutos, reuniu-se a banca examinadora na sala 47 do Prédio de Agroquímica, composta pelos docentes: Celso Martins Belisário (orientador), Flávio Arantes Campos (membro), Rogério Favareto (membro), para examinar o Trabalho de Curso intitulado "OBTENÇÃO DE PADRÕES ANALÍTICOS DE CAROTENOIDES POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PELO GRAU DE PUREZA EM UV/VIS" do(a) estudante Anne Cândida de Carvalho, Matrícula nº2020102203540295 do Curso de Engenharia Química do IF Goiano – Campus Rio Verde. A palavra foi concedida ao(a) estudante para a apresentação oral do TC, houve arguição do(a) candidato pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela APROVAÇÃO do(a) estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata que segue assinada pelos membros da Banca Examinadora.

(Assinado Eletronicamente)

Celso Martins Belisário
Orientador(a)

(Assinado Eletronicamente)

Flávio Arantes Campos
Membro

(Assinado Eletronicamente)

Rogério Favareto
Membro

Observação:

() O(a) estudante não compareceu à defesa do TC.

Documento assinado eletronicamente por:

- **Celso Martins Belisario, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO** , em 25/06/2025 09:29:10.
- **Rogério Favareto, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO** , em 25/06/2025 09:36:07.
- **Flávio Arantes Campos, 2023202320340005 - Discente**, em 25/06/2025 09:47:38.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 24/06/2025. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 719648
Código de Autenticação: cb59086428



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, avós e tios, pelo sacrifício e incentivo que sempre me impulsionam.

A minha irmã, pela cumplicidade e motivação nos momentos desafiadores.

Aos meus professores, que não apenas me ensinaram conteúdos, mas também a pensar, questionar e acreditar no poder da educação.

E a todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram a chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, aos meus pais, Rosembergue e Adaumar, pelo amor incondicional, apoio inabalável e por serem meus pilares em cada etapa dessa jornada. Sua força e incentivo tornaram este momento possível.

À minha avó Izabel e ao meu avô Jeromino, por me ensinarem, com seu carinho e sabedoria, o valor da persistência e da família. Seus exemplos sempre me guiaram.

À minha tia Sandra e ao meu tio Neil, pelo apoio constante e por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidava. Sua confiança foi meu alicerce.

À minha irmã, Nicolle, minha parceira em todas as horas. Obrigado por ser minha fonte de inspiração, pelas risadas compartilhadas e por nunca me deixar desistir.

Aos meus professores, em especial ao orientador Celso, pela dedicação, paciência e conhecimento compartilhado. A cada educador que marcou minha trajetória, meu profundo reconhecimento por transformarem desafios em aprendizados.

Aos meus amigos, que se tornaram minha segunda família. Obrigado pelo apoio incondicional, pelos momentos de descontração e por estarem ao meu lado nos dias mais difíceis.

À Quality Consultoria, pelas oportunidades de crescimento, experiências práticas e por terem contribuído significativamente para minha formação profissional.

RESUMO

O estudo investigou o potencial da polpa de murici (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae) como fonte de carotenoides para padrões analíticos. A polpa foi adquirida de fornecedor certificado e processada por extração com acetona resfriada (4°C), seguida de filtração e partição líquido-líquido com éter de petróleo gelado. Os carotenoides foram purificados por cromatografia em coluna (CC) usando sílica gel como fase estacionária e éter de petróleo como eluente. A análise por espectrofotometria UV-Vis (350-700 nm) detectou picos característicos em 446 e 473 nm, compatíveis com os do β -caroteno padrão (450 e 470 nm), confirmando a presença desses compostos. A técnica de CC mostrou-se eficiente no isolamento dos pigmentos, com recuperação satisfatória. Os resultados indicam que os extratos de murici possuem perfil adequado para produção de padrões analíticos, apresentando vantagens como matéria-prima acessível e método de extração simplificado. Além disso, a similaridade espectrofotométrica com padrões comerciais sugere potencial aplicação em controle de qualidade de alimentos e suplementos. Este trabalho contribui para a valorização de frutos nacionais como fontes sustentáveis de compostos bioativos, abrindo perspectivas para pesquisas em química de produtos naturais e desenvolvimento de métodos analíticos.

Palavras-chaves: Espectrofotometria UV-Vis; *Byrsonima crassifolia*; β -caroteno; Compostos bioativos.

ABSTRACT

This study investigated the potential of murici pulp (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae) as a source of carotenoids for analytical standards. The pulp was obtained from a certified supplier and processed through cold acetone extraction (4°C), followed by filtration and liquid-liquid partitioning with chilled petroleum ether. The carotenoids were purified by column chromatography (CC) using silica gel as the stationary phase and petroleum ether as the eluent. UV-Vis spectrophotometry analysis (350-700 nm) revealed characteristic peaks at 446 and 473 nm, consistent with β -carotene standards (450 and 470 nm), confirming the presence of these compounds. The CC technique proved efficient for pigment isolation with satisfactory recovery. Results indicate that murici extracts have suitable characteristics for analytical standard production, offering advantages such as accessible raw material and a simplified extraction method. Furthermore, the spectrophotometric similarity with commercial standards suggests potential applications in food and supplement quality control. This work contributes to the valorization of native fruits as sustainable sources of bioactive compounds, opening new perspectives for natural products chemistry research and analytical method development.

Keywords: UV-Vis spectrophotometry; *Byrsonima crassifolia*; β -carotene; Bioactive compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –Estrutura química de β -caroteno. Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).....	12
Figura 2 –Estrutura química de licopeno. Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).....	12
Figura 3 –Estrutura química de α -caroteno. Fonte:Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).....	12
Figura 4 –Estrutura química de luteína. Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).....	12
Figura 5 –Estrutura química de zeaxantina.Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).....	13
Figura 6 –Estrutura química de astaxantina. Fonte: Albarelo (2025).....	13
Figura 7 –Estrutura química de cantaxantina. Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).....	13
Figura 8 –Fluxograma dos passos para obtenção. Fonte: Próprio autor (2025).....	16
Figura 9 –Cromatografia em coluna.Fonte: Stéfano Araújo Novais (2023).....	19
Figura 10 –Esquema Espectrofotometria UV/Vis. Tennessine (2024).....	20
Figura 11 –Pesagem das amostras. Fonte: Próprio autor (2024).....	22
Figura 12 –Amostras adicionadas de acetona. Fonte: Próprio autor (2024).....	22
Figura 13 –Filtração à vácuo. Fonte: Próprio autor (2024).....	22
Figura 14 –Separação da fase etérea contendo os carotenoides. Fonte: Próprio autor (2024).....	23
Figura 15 –Lavagem com água destilada. Fonte: Próprio autor (2024).....	23
Figura 16 – Separação. Fonte: Próprio autor (2024).....	24
Figura 17 –Cromatografia em coluna. Fonte: Próprio autor (2024).....	24
Figura 18 –Amostras resultantes da cromatografia em coluna. Fonte: Próprio autor (2024).....	25
Figura 19 – Espectro de absorbância em UV/Vis de β -caroteno P.A. Fonte: J.B Harborne (1984).....	26
Figura 20 –Espectro de absorbância em UV/Vis da amostra. Fonte: Próprio autor (2024).....	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

2. REVISÃO DE LITERATURA

- 2.1. Carotenoides: Estrutura e Propriedades Essenciais
- 2.2. Extração de Carotenoides: Métodos e Considerações
- 2.3. Purificação por Cromatografia em Coluna: Princípios e Aplicações em Carotenoides
- 2.4. Validação por UV/Vis de Carotenoides: Padrões e Metodologias

3. METODOLOGIA

- 3.1. Aquisição e preparo do material vegetal
- 3.2. Extração dos carotenoides totais
- 3.3. Preparação e purificação dos padrões de carotenoides
- 3.4. Quantificação dos carotenoides totais

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. CONCLUSÃO

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INTRODUÇÃO

Os carotenoides constituem um dos grupos mais fascinantes de pigmentos naturais, responsáveis pelas cores vibrantes observadas em diversas espécies vegetais. Presentes em frutas tropicais como murici (*Byrsonima crassifolia*), pequi (*Caryocar brasiliense*) e buriti (*Mauritia flexuosa*), esses compostos exercem funções vitais tanto para os organismos produtores quanto para a saúde humana. Sua variação cromática, que abrange tonalidades desde o amarelo-dourado até o vermelho intenso, resulta de uma estrutura química singular, marcada por cadeias poliênicas conjugadas frequentemente terminadas em anéis de β -ionona ou ϵ -ionona (Britton, 1995; Rodriguez-Amaya, 2016).

Além de seu papel ecológico – incluindo proteção contra estresse oxidativo e atração de dispersores de sementes –, os carotenoides destacam-se por suas propriedades nutricionais e fisiológicas. Atuam como antioxidantes potentes, precursores de vitamina A (especialmente o β -caroteno) e moduladores de processos metabólicos ligados à prevenção de doenças crônicas (Eggersdorfer & Wyss, 2018). Estudos recentes evidenciam ainda seu potencial neuroprotetor e imunomodulador, ampliando suas aplicações nas áreas nutricional e farmacêutica (Milani et al., 2017).

Entre as técnicas analíticas, a espectrofotometria UV-Vis destaca-se pela praticidade e confiabilidade na identificação e quantificação desses compostos. Essa metodologia baseia-se nos padrões de absorção luminosa específicos de cada carotenoide, que variam conforme sua estrutura molecular e o solvente empregado (Mercadante, 2008). O β -caroteno, por exemplo, exibe absorção máxima em ~450 nm devido às suas 11 ligações duplas conjugadas, enquanto carotenoides menos conjugados, como o ζ -caroteno, absorvem em menores comprimentos de onda (Britton, 1995).

Técnicas avançadas, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a detectores de arranjo de diodos (DAD) e espectrometria de massas (EM), revolucionaram a análise desses pigmentos, permitindo a separação, quantificação e identificação de estruturas complexas e isômeros em baixas concentrações (Zorzete et al., 2021). No entanto, persiste o desafio da escassez de

padrões de referência para carotenoides de frutas nativas, limitando a comparação e validação de dados entre estudos (Nascimento et al., 2022).

A versatilidade dos carotenoides estende-se a setores industriais. Na alimentação, são empregados como corantes naturais e ingredientes funcionais em suplementos (Rodriguez-Amaya, 2019). Na cosmética, extratos de murici e buriti demonstram eficácia na proteção solar e anti-envelhecimento (Castro et al., 2021). Pesquisas emergentes exploram ainda seu uso em sistemas de liberação controlada de fármacos, aproveitando sua biocompatibilidade (Gonçalves et al., 2022).

Para viabilizar o aproveitamento sustentável desses recursos, é essencial desenvolver métodos analíticos padronizados e acessíveis. Abordagens inovadoras, como metabolômica e inteligência artificial aplicada à espectrometria de massas, abrem novas fronteiras na pesquisa (Azevedo-Meileiro et al., 2021). Assim, o estudo desses pigmentos não só favorece a conservação da biodiversidade, mas também impulsiona avanços em saúde, alimentação e biotecnologia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Carotenoides: Estrutura e Propriedades Essenciais

Os carotenoides formam uma classe relevante de pigmentos naturais pertencentes aos tetraterpenoides (C_{40}), caracterizados por um extenso sistema de ligações duplas conjugadas, responsável por suas cores vibrantes, que variam do amarelo ao vermelho (Britton, 1995). Estruturalmente, esses compostos derivam da união cabeça-cauda de oito unidades isoprenoides (C_5H_8), formando uma cadeia poliênica central que absorve luz entre 400 e 550 nm (Hashimoto et al., 2016). Além de sua importância como pigmentos, os carotenoides desempenham funções biológicas essenciais, como atividade antioxidante, modulação da expressão gênica e ação provitamina A (Meléndez-Martínez et al., 2021).

Os carotenoides são classificados em duas principais subclasses, que diferem em sua estrutura química e propriedades funcionais:

Carotenos

- Compostos apolares formados exclusivamente por átomos de carbono e hidrogênio (hidrocarbonetos tetraterpênicos);
- Apresentam estrutura simétrica com anéis β -ionona nas extremidades (no caso dos carotenos cíclicos);
- Principais representantes: β -caroteno: pigmento laranja, importante precursor de vitamina A, encontrado em cenouras, abóboras e vegetais verdes escuros (Figura 1); licopeno: pigmento vermelho com potente ação antioxidante, abundante em tomates e derivados (Figura 2); α -caroteno: isômero do β -caroteno com atividade provitamínica A reduzida (Figura 3);
- São mais estáveis quimicamente que as xantofilas;
- Apresentam menor biodisponibilidade em comparação com as xantofilas (Rodríguez-Amaya, 2016; Meléndez-Martínez et al., 2022).

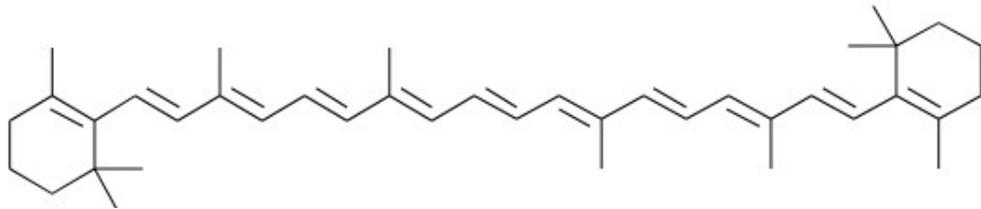
Xantofilas

- Derivados oxigenados dos carotenos, contendo grupos funcionais adicionais
- Maior polaridade devido à presença de grupos hidroxila, carbonila ou epóxido
- Principais representantes: Luteína: pigmento amarelo com função protetora na retina ocular (Figura 4); zeaxantina: isômero da luteína, importante para a saúde visual (Figura 5); astaxantina: potente antioxidante encontrado em microalgas e frutos do mar (Figura 6); cantaxantina: pigmento utilizado na alimentação animal (Figura 7);
- Características especiais: Maior solubilidade em meios aquosos; Interações mais complexas com proteínas e membranas biológicas; Atividade antioxidante mais pronunciada; Melhor biodisponibilidade que os carotenos (Rodríguez-Amaya, 2020; Márquez-Ruiz et al., 2021)

Esta distinção estrutural entre carotenos e xantofilas é crucial para compreender seu comportamento em sistemas biológicos e suas aplicações

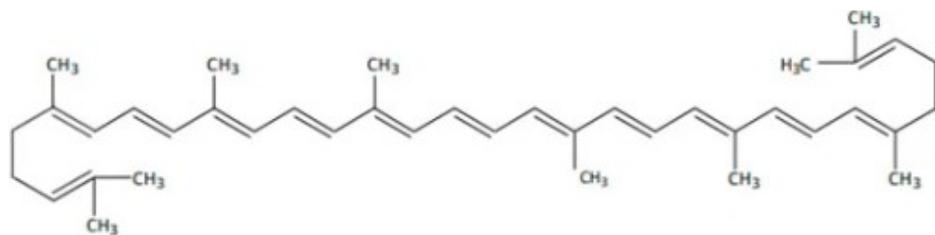
tecnológicas. Enquanto os carotenos são mais estáveis e lipofílicos, as xantofilas apresentam maior versatilidade funcional devido à presença de grupos oxigenados, o que as torna particularmente interessantes para aplicações nutracêuticas e farmacêuticas.

Figura 1. Estrutura química de β -caroteno.



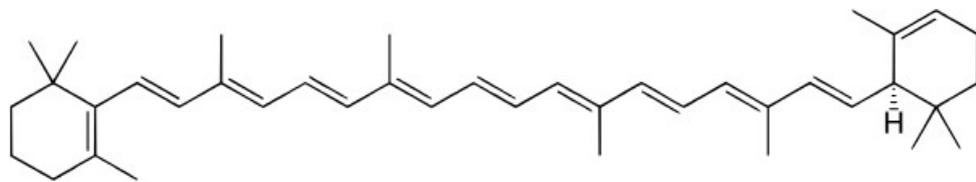
Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).

Figura 2. Estrutura química de licopeno.



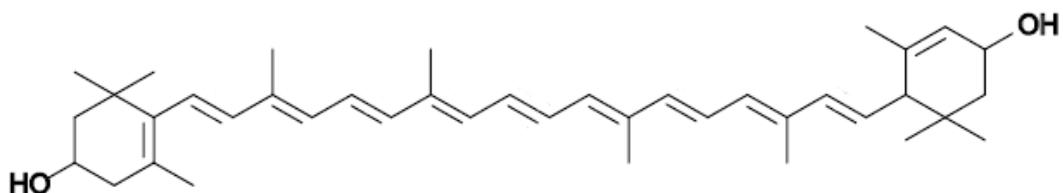
Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).

Figura 3. Estrutura química de α -caroteno.



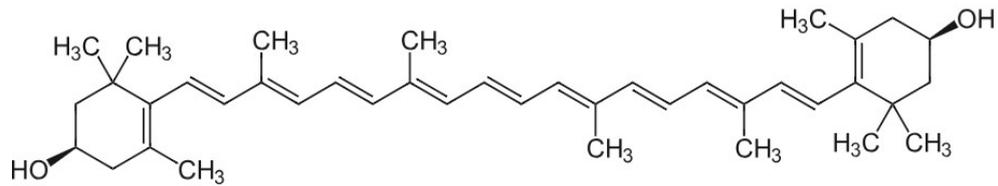
Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).

Figura 4. Estrutura química de luteína.



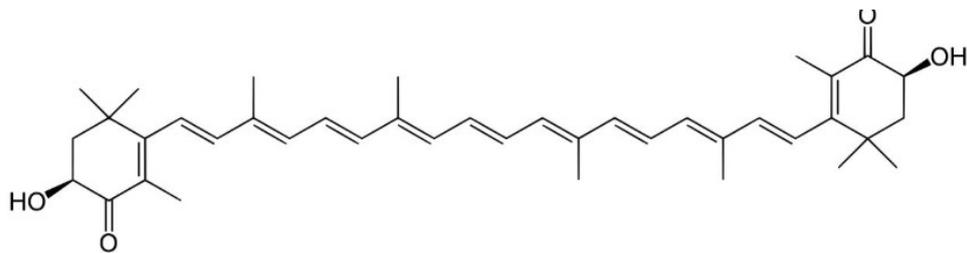
Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).

Figura 5.Estrutura química de zeaxantina.



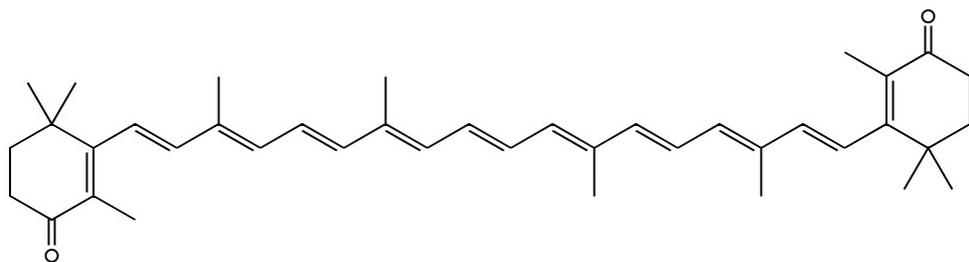
Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).

Figura 6.Estrutura química de astaxantina.



Fonte: Albarelo (2025).

Figura 7.Estrutura química de cantaxantina.



Fonte: Ilustração do autor, baseado em dados de propriedade comum (2025).

Do ponto de vista físico-químico, os carotenoides apresentam propriedades marcantes que determinam sua estabilidade e aplicabilidade. Eles são preferencialmente solúveis em solventes orgânicos, como acetona e hexano, e insolúveis em água (Meléndez-Martínez et al., 2021). No entanto, são altamente sensíveis a fatores ambientais, como degradação fotoquímica na presença de luz visível, oxidação por radicais livres devido ao sistema de duplas ligações conjugadas, isomerização térmica em temperaturas acima de 30 °C, que pode levar

à formação de isômeros cis com alteração da bioatividade, e instabilidade em condições de pH extremos (Rodríguez-Amaya, 2020; Hashimoto et al., 2016).

Na área tecnológica e analítica, os carotenoides são amplamente utilizados como padrões em cromatografia (CLAE, UPLC - Cromatografia Líquida Ultra Rápida) devido à sua absorção característica, além de serem essenciais no controle de qualidade de alimentos e suplementos (Meléndez-Martínez et al., 2022). Estudos recentes destacam seu papel como biomarcadores de qualidade em produtos naturais e processados, como no azeite de oliva, onde a presença de luteína e β -caroteno é usada para verificar autenticidade (Meléndez-Martínez et al., 2021). Além disso, em alimentos fortificados, a encapsulação de carotenoides em nanopartículas tem sido explorada para aumentar sua estabilidade e biodisponibilidade (Rodríguez-Amaya, 2020).

Entender bem as propriedades físico-químicas dos carotenoides é fundamental para criar métodos analíticos mais precisos e aplicações tecnológicas avançadas. Estudos recentes mostram que eles têm grande potencial como biomarcadores e ingredientes funcionais, reforçando a importância de desenvolver estratégias que aumentem sua estabilidade e eficácia em alimentos e produtos farmacêuticos.

2.2. Extração de Carotenoides: Métodos e Considerações

A extração eficiente de carotenoides exige procedimentos cuidadosos devido à alta sensibilidade desses compostos a fatores como luz, oxigênio, calor e variações de pH (Rivera & Canela-Garayoa, 2012). Esses pigmentos, encontrados em plantas, microalgas e alguns microrganismos, são amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, demandando métodos que preservem sua integridade e atividade biológica (Melendez-Martínez et al., 2020). Estudos recentes destacam que a degradação dos carotenoides durante a extração pode reduzir significativamente sua bioatividade, reforçando a necessidade de otimização dos processos (Rodríguez-Amaya, 2019).

Métodos Tradicionais de Extração: Entre as técnicas mais utilizadas está a maceração com solventes orgânicos, que envolve o uso de acetona, hexano-éter

(1:1) ou misturas como éter de petróleo/acetona (Furr & Clark, 1997). Esses solventes são escolhidos de acordo com a polaridade dos carotenoides presentes na amostra, sendo a extração líquido-líquido particularmente eficaz na partição desses compostos (Rodríguez-Amaya, 2016). No entanto, métodos convencionais apresentam limitações, como alto consumo de solventes tóxicos e maior risco de degradação térmica (Santiago et al., 2021).

Técnicas Avançadas e Sustentáveis: Alternativas modernas buscam reduzir o uso de solventes tóxicos e melhorar a eficiência do processo. A extração com CO₂ supercrítico (SFE - Extração com Fluido Supercrítico) destaca-se por sua seletividade e ausência de resíduos, sendo ideal para aplicações que exigem alta pureza (Prieto et al., 2020). Outras técnicas, como extração assistida por ultrassom (UAE - Extração Assistida por Ultrassom) e extração com fluidos pressurizados (PLE - Extração com Líquidos Pressurizados), aumentam o rendimento e reduzem o tempo de processamento, sendo opções viáveis para escalas industriais (Gallo et al., 2021). Estudos recentes demonstram que a UAE pode melhorar a recuperação de carotenoides em até 30% em comparação com métodos convencionais (Das et al., 2022).

Controle das Condições de Extração: A temperatura deve ser rigorosamente controlada, preferencialmente abaixo de 25°C, para evitar degradação térmica e isomerização dos carotenoides (Britton et al., 2004). Além disso, o processo deve ser realizado em ambiente com luz reduzida ou sob luz âmbar para minimizar a foto-oxidação (Melendez-Martínez et al., 2020). O uso de atmosfera inerte, como nitrogênio ou argônio, também é recomendado para proteger os compostos durante a extração (Santiago et al., 2021).

Estabilização e Armazenamento: Para prevenir a degradação oxidativa, antioxidantes como BHT (0,1%), α -tocoferol (vitamina E) e ácido ascórbico são frequentemente adicionados (Britton et al., 2004). Após a extração, as soluções contendo carotenoides devem ser armazenadas a -20°C, em frascos escuros e sob atmosfera inerte, garantindo maior estabilidade (Prieto et al., 2020).

Análise e Aplicações: A identificação e quantificação dos carotenoides são geralmente realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a detectores UV-Vis ou espectrômetros de massa (Rodríguez-Amaya, 2019). Esses compostos possuem diversas aplicações, desde suplementos nutricionais e corantes

naturais até ingredientes ativos em cosméticos e fármacos, destacando sua importância comercial e biológica (Gallo et al., 2021), conforme figura 8.

Figura 8. Fluxograma dos passos para obtenção.



Fonte: Próprio autor (2025).

A seleção da técnica de extração de carotenoides deve considerar fatores como a matriz biológica, o perfil desejado de compostos e a escala de produção. Embora os métodos convencionais ainda sejam amplamente empregados, técnicas avançadas, como extração com CO₂ supercrítico (SFE) e extração assistida por ultrassom (UAE), vêm ganhando destaque devido à sua eficiência e menor impacto ambiental (Das et al., 2022). Além disso, o controle rigoroso de parâmetros como temperatura, exposição à luz e oxigênio, bem como a incorporação de antioxidantes, são medidas fundamentais para preservar a estabilidade e a bioatividade dos carotenoides extraídos (Melendez-Martínez et al., 2020). Portanto, a otimização desses processos é crucial para atender às demandas das indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, garantindo produtos finais de alta qualidade e valor nutricional.

2.3. Purificação por Cromatografia em Coluna: Princípios e Aplicações em Carotenoides

A cromatografia em coluna (CC), como mostra a figura 9, mantém-se como um dos métodos mais confiáveis e versáteis para a purificação de carotenoides, desde sua introdução como técnica analítica (Zechmeister, 1962). Este método de separação baseia-se na diferença de afinidade dos compostos entre as fases móvel e estacionária, permitindo o isolamento de carotenoides individuais a partir de extratos complexos. Estudos recentes reforçam sua eficácia tanto em laboratórios de pesquisa quanto em processos industriais, especialmente quando combinada com estratégias de detecção avançadas (Meléndez-Martínez et al., 2020). A versatilidade da CC a torna indispensável para a obtenção de carotenoides com alta pureza, essenciais em estudos farmacológicos e nutricionais.

Seleção da Fase Estacionária e Otimização do Processo: A escolha do material de empacotamento da coluna é crítica para o sucesso da purificação. Sílica gel ainda é amplamente utilizada para carotenoides apolares, como β -caroteno e licopeno, enquanto fases reversas (C18) são preferenciais para xantofilas polares, como luteína e zeaxantina (Rodríguez-Bernaldo de Quirós et al., 2017). Avanços recentes incluem o uso de materiais híbridos, como sílica modificada com grupos amino, que melhoram a seletividade para carotenoides estruturalmente similares (Sánchez-Camargo et al., 2019). A granulometria (40-63 μm) e o diâmetro da coluna devem ser ajustados conforme a escala de purificação, com colunas de maior diâmetro permitindo cargas superiores a gramas de extrato bruto.

A estratégia de eluição em gradiente de polaridade demonstra superioridade na separação de misturas complexas. Protocolos modernos recomendam iniciar com solventes não polares (hexano) e progredir para misturas com acetato de etila ou acetona, otimizando a resolução (Rivera & Canela-Garayoa, 2012). A adição de pequenas quantidades de álcool (0,1-1% de etanol) tem se mostrado eficaz na melhoria da separação, especialmente para carotenoides oxigenados (Meléndez-Martínez, 2020).

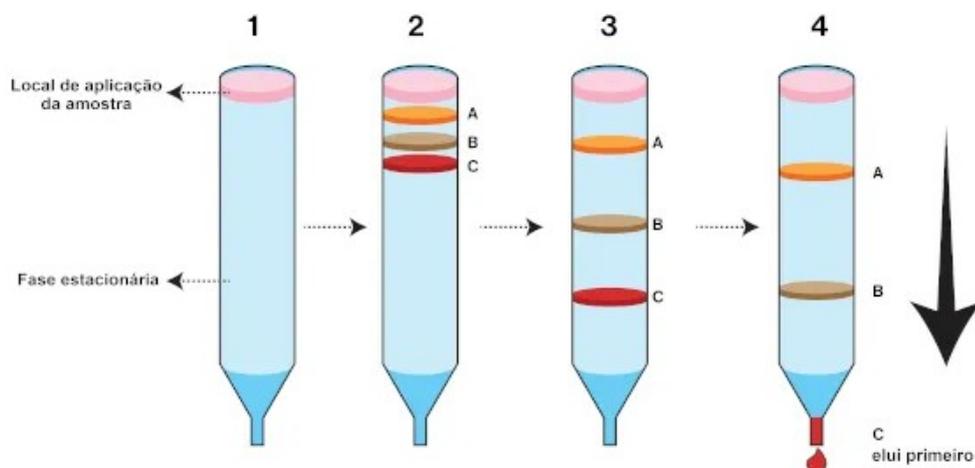
Vantagens Comparativas e Escalonamento Industrial: Entre os métodos cromatográficos, a CC destaca-se pelo custo-benefício e facilidade de escalonamento. Diferentemente da CLAE preparativa, que requer equipamentos dispendiosos, a CC pode ser realizada com materiais básicos, tornando-a acessível em contextos de recursos limitados (Britton, 2016). Estudos recentes demonstram

sua aplicação eficaz na purificação de carotenoides em escala semi-preparativa, com recuperações acima de 90% e pureza adequada para análises estruturais (Sánchez-Camargo et al., 2019).

Técnicas Complementares e Controle de Qualidade: Para maximizar a eficiência, recomenda-se testes preliminares em cromatografia em camada delgada (CCD) para definir o sistema de solventes ideal. A monitorização por espectrofotometria UV-Vis, baseada nas absorções características (400-500 nm), é essencial para identificar frações puras (Meléndez-Martínez et al., 2020). Em aplicações que exigem pureza elevada, a CC pode ser acoplada a técnicas como CLAE semi-preparativa ou cromatografia preparativa em camada fina (CPF - Cromatografia Preparativa em Camada Fina) para refinamento final (Rodríguez-Bernaldo de Quirós et al., 2017).

Aplicações e Perspectivas Futuras: A CC permanece fundamental na caracterização de novos carotenoides e na produção de padrões de referência. Avanços recentes incluem o desenvolvimento de fases quirais para separação de estereoisômeros, como (all-E)- e (Z)-carotenoides (Meléndez-Martínez, 2020). Além disso, a integração da CC com técnicas como CL-EM (Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massas) e RMN (Ressonância Magnética Nuclear) tem ampliado sua aplicação em estudos metabômicos (Sánchez-Camargo et al., 2019). A técnica continua relevante frente a métodos modernos, sendo indispensável em estudos que demandam isolamento em grande escala.

Figura 9. Cromatografia em coluna.



Fonte: Stéfano Araújo Novais (2023).

2.4. Validação por UV/Vis de Carotenoides: Padrões e Metodologias

A espectrofotometria UV/Vis, como mostra a figura 10, permanece como uma técnica analítica indispensável na validação da pureza e identificação de carotenoides, alinhando-se aos rigorosos protocolos estabelecidos por agências regulatórias, como a ICH Q2 (2005). Essa metodologia baseia-se nas propriedades eletrônicas dos carotenoides, cujos sistemas conjugados de duplas ligações absorvem intensamente na região do visível (350-550 nm), permitindo tanto a caracterização qualitativa quanto a quantificação precisa desses compostos (Rodriguez-Amaya, 2016). Estudos recentes destacam que a técnica é fundamental para garantir a qualidade de matérias-primas na indústria farmacêutica e de alimentos, especialmente em formulações que exigem alto grau de pureza (Meléndez-Martínez et al., 2020).

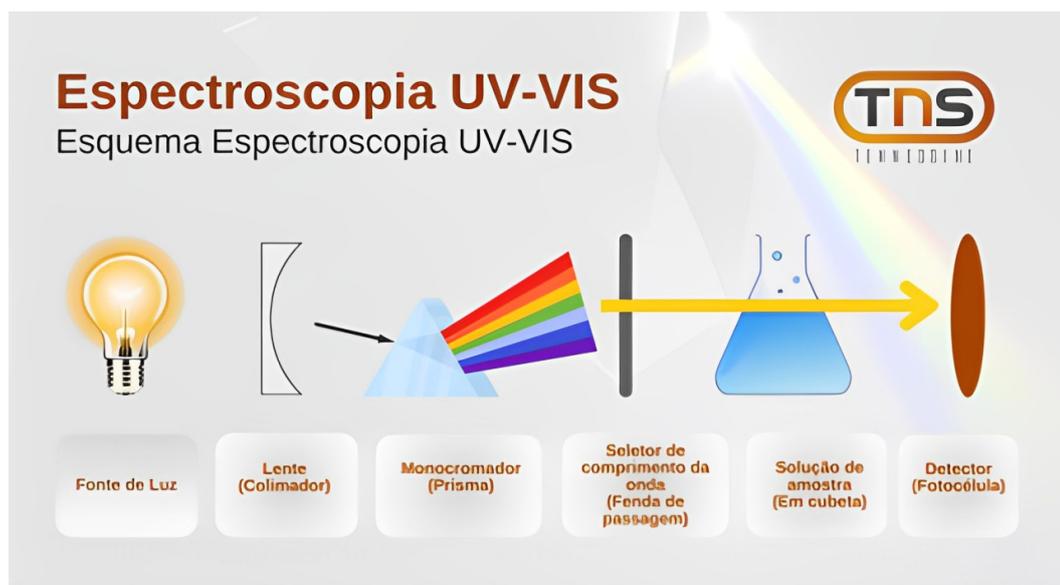
Caracterização Espectral e Critérios de Pureza: Os carotenoides apresentam assinaturas espectrais únicas, com máximos de absorção que variam conforme sua estrutura química. O β -caroteno, por exemplo, exibe picos característicos em 450 nm e 470 nm em solventes como hexano ou acetona, enquanto a luteína, devido à presença de grupos hidroxila, absorve em comprimentos de onda menores (420-445 nm) (Rodriguez-Amaya, 2016). A pureza espectral é avaliada por meio da razão de absorbância entre os picos máximos e mínimos, sendo que desvios nos valores de referência podem indicar impurezas ou degradação (Meléndez-Martínez et al., 2020). Além disso, carotenoides altamente conjugados, como o licopeno, absorvem em regiões mais longas (470-505 nm), o que permite sua diferenciação em matrizes complexas (Giuffrida et al., 2017).

Validação Quantitativa e Parâmetros Analíticos: Conforme as diretrizes da EURACHEM (2014) e ICH Q2 (2005), a validação de métodos espectrofotométricos para carotenoides exige a avaliação de parâmetros como linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), além de repetibilidade. Estudos recentes demonstram que curvas de calibração com coeficientes de correlação (R^2) superiores a 0,99 são essenciais para análises quantitativas confiáveis (Giuffrida et al., 2017). O LOD e LOQ para carotenoides típicos variam entre 0,1-0,5 $\mu\text{g/mL}$ e 0,5-2,0 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, dependendo da sensibilidade do equipamento e da matriz analisada (Rodriguez-Amaya, 2016). A repetibilidade, expressa pelo desvio padrão relativo (DPR), deve ser inferior a 5% para garantir a robustez do método (Meléndez-Martínez et al., 2020).

Protocolos Analíticos e Otimização Experimental: A execução adequada da espectrofotometria UV/Vis requer cuidados específicos, como o uso de solventes de grau espectroscópico e a prevenção da degradação fotoquímica. Recomenda-se que as análises sejam realizadas sob luz ambiente reduzida e em temperaturas controladas (20-25°C), especialmente para carotenoides suscetíveis à isomerização, como o licopeno (Giuffrida et al., 2017). A faixa ideal de absorbância para medidas quantitativas situa-se entre 0,3 e 1,0 unidades, utilizando cubetas com caminho óptico de 1 cm (Rodriguez-Amaya, 2016). Além disso, a correção do branco com solvente puro é crucial para minimizar interferências.

Aplicações em Controle de Qualidade e Pesquisa: Na indústria, a espectrofotometria UV/Vis é amplamente empregada no controle de qualidade de suplementos alimentares e fármacos, assegurando a identidade e pureza dos carotenoides (Meléndez-Martínez et al., 2020). Em pesquisas, a técnica é frequentemente associada a métodos cromatográficos (CLAE-DAD - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos) e espectrometria de massas para a caracterização de novos compostos. Avanços recentes incluem a aplicação de ferramentas quimiométricas, como análise de componentes principais (ACP) e calibração multivariada, permitindo a determinação simultânea de múltiplos carotenoides em matrizes complexas (Giuffrida et al., 2017).

Figura 10. Esquema Espectrofotometria UV/Vis.



Fonte: Tennessine (2024).

3. METODOLOGIA

A pesquisa empregou uma metodologia rigorosa, com o objetivo de assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos. Para tanto, seguiram-se protocolos previamente validados, com adaptações pontuais adequadas às especificidades do estudo. O procedimento metodológico envolveu a coleta padronizada do material vegetal, a extração otimizada dos carotenoides e a subsequente purificação dos compostos por meio de cromatografia. Cada etapa experimental foi criteriosamente monitorada, de modo a maximizar o rendimento e a garantir a pureza dos extratos, sendo adotados controles de qualidade que possibilitaram a reprodutibilidade dos dados. A confirmação da identidade e da pureza dos carotenoides isolados foi realizada por espectrofotometria na região do UV-Vis, assegurando a adequação dos padrões obtidos às exigências analíticas.

3.1. **Aquisição e preparo do material vegetal**

A polpa do fruto utilizada neste estudo foi adquirida de fornecedor comercial, sem especificação detalhada da origem geográfica. No laboratório, a polpa de murici foi submetida à triagem com base em critérios de uniformidade, ausência de danos físicos e sinais de contaminação microbiológica. A polpa foi mantida congelada até o momento da extração.

3.2. **Extração dos carotenoides totais**

A extração dos carotenoides totais foi realizada com base na metodologia descrita por Rodriguez-Amaya et al. (1976), com modificações. Inicialmente, a polpa da fruta foi pesada (Figura 11) e homogeneizada com acetona P.A. resfriada (4°C), utilizando homogenizador mecânico (Figura 12). A mistura resultante foi submetida à filtração a vácuo, em funil de Büchner com papel de filtro Whatman nº 1 (Figura 13), repetindo-se o processo até a completa extração dos pigmentos.

O filtrado obtido foi transferido quantitativamente para funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo P.A. (Figura 14), previamente resfriado. Em seguida, realizaram-se três lavagens sucessivas com água destilada para remoção dos resíduos de acetona (Figura 15). A saponificação foi efetuada por meio da

adição de solução metanólica de KOH a 10% (1:1 v/v), mantendo-se a mistura em repouso por 24 horas, à temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), protegida da luz.

Figura 11. Pesagem das amostras.



Fonte: Próprio autor (2024).

Figura 12. Amostras adicionadas de acetona.



Fonte: Próprio autor (2024).

Figura 13. Filtração à vácuo.



Fonte: Próprio autor (2024).

Figura 14. Separação da fase etérea contendo os carotenoides.



Fonte: Próprio autor (2024).

Figura 15. Lavagem com água destilada.



Fonte: Próprio autor (2024).

3.3. Preparação e purificação dos padrões de carotenoides

A obtenção dos padrões analíticos de β -caroteno foi realizada a partir da polpa de murici (Figura 13), escolhida como matriz fonte devido ao seu reconhecido teor elevado desses carotenoides, conforme indicado por Zeraik e Yariwake (2008).

A purificação dos compostos foi conduzida por cromatografia em coluna (CC), utilizando-se como fase estacionária uma mistura de sílica gel 60 e óxido de magnésio na proporção 1:1 (m/m). Como fase móvel, empregou-se o sistema solvente acetona:éter de petróleo (15:85, v/v), de acordo com o protocolo adaptado de Rodriguez-Amaya et al. (1976) (Figura 14).

As bandas correspondentes aos carotenoides de interesse foram raspadas, eluídas e submetidas a quatro etapas consecutivas de re-cromatografia sob as mesmas condições cromatográficas, com o objetivo de alcançar o grau de pureza necessário para fins analíticos (Figura 15). A pureza dos compostos isolados foi

confirmada por espectrofotometria UV-Vis, mediante comparação dos espectros obtidos com os de padrões certificados descritos na literatura.

Figura 16. Separação.



Fonte: Próprio autor (2024).

Figura 17. Cromatografia em coluna.



Fonte: Próprio autor (2024).

Figura 18. Amostras resultantes da cromatografia em coluna.



Fonte: Próprio autor (2024).

3.4. Quantificação dos carotenoides totais

A quantificação foi realizada por espectrofotometria UV-Vis, utilizando cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm. O comprimento de onda de máxima absorvância (λ_{\max}) foi determinado por varredura espectral entre 300 e 700 nm, com os espectros obtidos comparados aos dados de referência (Davies, 1976).

A concentração de carotenoides totais foi expressa em microgramas de β -caroteno por grama de amostra ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), calculada segundo a equação de Davies (1976). Para o cálculo, considerou-se a absorvância no λ_{\max} , o volume final do extrato, o fator de diluição, o coeficiente de extinção específico do β -caroteno (2592 em éter de petróleo) e a massa da amostra.

A pureza dos extratos foi confirmada pela análise espectral, observando-se a ausência de interferentes na região de absorção dos carotenoides (400–500 nm), conforme demonstrado em estudos prévios com compostos análogos (Rodríguez-Amaya, 2016; Mercadante et al., 2017). Todas as determinações foram realizadas em triplicata, seguindo protocolos validados para espectrofotometria UV-Vis (Aoac, 2019; Lichtenthaler, 1987), garantindo a precisão dos resultados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

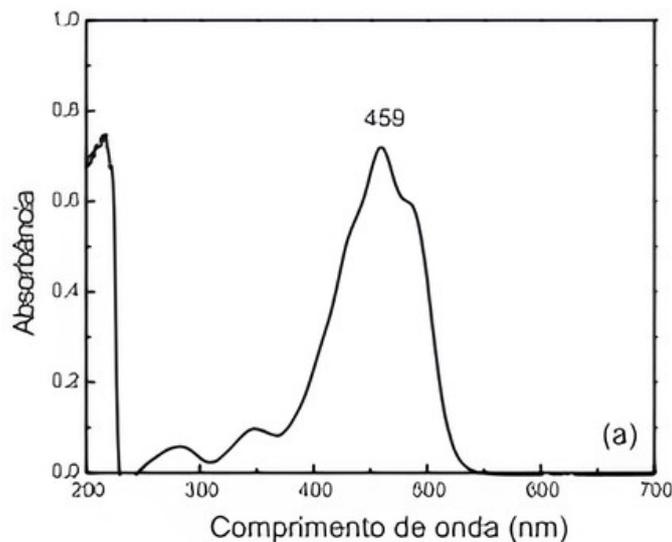
O espectro de absorção obtido na amostra apresenta características típicas do β -caroteno, exibindo um perfil semelhante ao do β -caroteno p.a, conforme figura 19. No entanto, algumas variações sutis podem ser observadas, as quais podem

estar relacionadas a diferenças na pureza da amostra, no solvente utilizado ou nas condições experimentais adotadas, como mostrado na figura 20.

Na região entre 400 e 460 nm, observa-se que, assim como no padrão P.A., a absorvância começa a se tornar significativa a partir de 400 nm, seguida por um declínio inicial e a formação de um "ombro" em 440 nm. Esse comportamento é característico das transições eletrônicas conjugadas da cadeia poliênica do β -caroteno, confirmando a presença do composto na amostra. O pico principal em 450 nm, típico do β -caroteno p.a, também foi detectado, porém com um declínio mais acentuado em 460 nm na amostra analisada. Essa diferença pode estar associada a interferências de impurezas ou a variações na polaridade do meio em que o β -caroteno foi dissolvido.

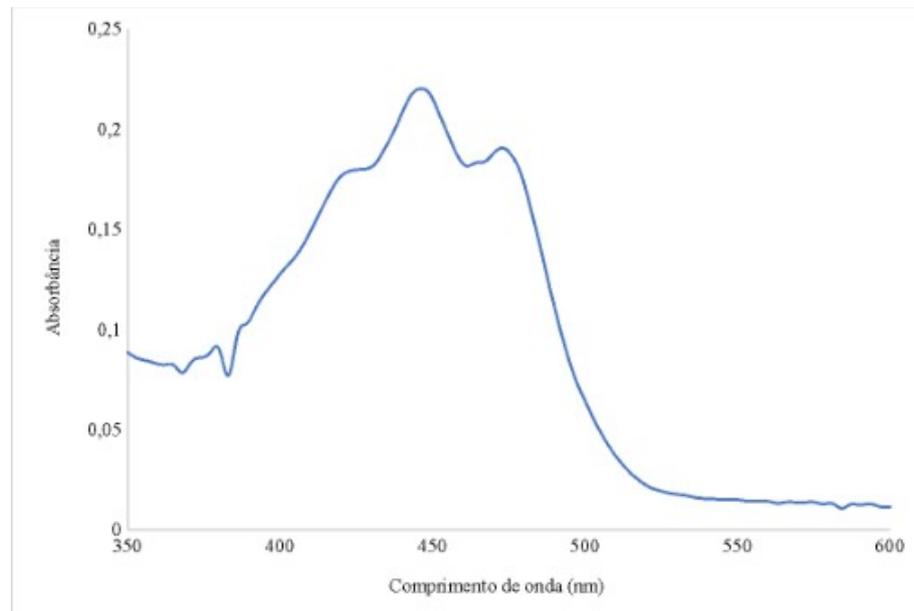
Além disso, a formação de um segundo "ombro" entre 460 e 480 nm no espectro da amostra sugere a possível presença de estruturas conjugadas adicionais ou efeitos de agregação molecular, que não são tão evidentes no β -caroteno P.A. Esse fenômeno pode indicar a coexistência de isômeros do β -caroteno ou mesmo derivados oxidados, que podem surgir devido a processos de degradação ou impurezas presentes na amostra.

Figura 19. Espectro de absorvância em UV/Vis de β -caroteno P.A.



Fonte: J.B Harborne (1984).

Figura 20. Espectro de absorbância em UV/Vis da amostra.



Fonte: Próprio autor (2025).

Inicialmente, o projeto previa a extração do β -caroteno diretamente das frutas in natura. No entanto, como o material vegetal disponível estava verde, o rendimento da saponificação foi comprometido, uma vez que a baixa maturação resultou em menor concentração de carotenoides solúveis. Diante disso, optou-se por utilizar polpa de fruta como alternativa, visando aumentar a eficiência do processo.

Além disso, foram necessárias modificações no protocolo de extração e purificação para compensar as limitações da amostra. Entre as adaptações realizadas, destacam-se a extração assistida por solvente polar-apolar, para melhorar a recuperação dos carotenoides, a filtração em múltiplas etapas, a fim de remover resíduos de polpa e fibras que poderiam interferir nas análises espectroscópicas, já que ao realizar a extração, as características do material macerado dificultaram a filtração em papel de filtro.

Essas alterações podem ter contribuído para as diferenças observadas no espectro de absorção em comparação ao padrão P.A., especialmente no que diz respeito ao ombro adicional entre 460 e 480 nm e ao declínio mais acentuado em 460 nm. A presença de interferentes oriundos da polpa ou mesmo subprodutos da saponificação incompleta pode justificar essas variações.

5. CONCLUSÃO

Os resultados confirmaram a identificação bem-sucedida de β -caroteno na amostra utilizando espectroscopia UV-Vis, superando as limitações iniciais do material vegetal. As adaptações metodológicas realizadas - como a substituição de frutas verdes por polpa e os ajustes nos processos de extração e purificação - demonstraram ser estratégias eficazes para viabilizar a análise, embora tenham introduzido algumas variações no perfil espectroscópico em comparação ao padrão de referência.

Este estudo traz contribuições importantes ao destacar a influência crítica do grau de maturação do material vegetal em análises de compostos lipofílicos, demonstrar a viabilidade de protocolos adaptados para matrizes não ideais e evidenciar como os métodos de extração e purificação podem afetar os resultados espectroscópicos.

Para pesquisas futuras, recomenda-se: utilizar frutas no estágio ideal de maturação para evitar adaptações metodológicas, explorar técnicas de purificação complementares para reduzir interferências, e investigar mais profundamente a estabilidade do β -caroteno sob diferentes condições experimentais.

Em conclusão, a metodologia desenvolvida mostrou-se eficaz na identificação de β -caroteno mesmo em condições não ideais, servindo como base valiosa para futuros aprimoramentos em estudos envolvendo análise de carotenoides. A similaridade geral entre os espectros obtidos e o padrão de referência confirma a identidade do β -caroteno na amostra analisada, reforçando a robustez da abordagem metodológica adotada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBARELO. Astaxantina: o antioxidante mais potente da natureza. Albarelo. Disponível em: <https://albarelo.es/astaxantina/>. Acesso em: 20 maio 2025.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; MERCADANTE, A. Z. Metabolômica aplicada ao estudo de carotenoides em frutas nativas. *Química Nova*, v. 44, n. 5, p. 612-620, 2021.

BRITTON, G. Carotenoids: Volume 4 - Natural Functions. Basel: Birkhäuser, 2016.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. Carotenoids: Handbook. Basel: Birkhäuser, 2004.

BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*, v. 9, n. 15, p. 1551-1558, 1995.

CASTRO, J. C.; SANTOS, M. A.; OLIVEIRA, R. N. Atividade fotoprotetora e antienvhecimento de extratos de *Mauritia flexuosa* e *Byrsonima crassifolia*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 31, n. 3, p. 345-356, 2021.

DAS, A.; KIM, D. W.; LEE, J. S. Ultrasound-assisted extraction of carotenoids: Recent advances and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 82, 105855, 2022.

EGGERSDORFER, M.; WYSS, A. Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 652, p. 18-26, 2018.

EURACHEM. Guia EURACHEM: O Fitness for Purpose of Analytical Methods – Um Guia para Validação em Química Analítica. 2. ed., 2014.

FURR, H. C.; CLARK, R. M. Extraction and analysis of carotenoids in human serum. *Methods in Enzymology*, v. 282, p. 130-142, 1997.

GALLO, M.; FERRARI, S.; RICCI, A. Emerging extraction techniques for carotenoids. *Food Chemistry*, v. 341, 128148, 2021.

GIUFFRIDA, D.; DONATO, P.; DUGO, G. Recent advances in carotenoid analysis by UV/Vis spectroscopy. *Food Chemistry*, v. 240, p. 825-833, 2017.

GONÇALVES, R. F. S.; MARTINS, J. T.; PINHEIRO, A. C. Carotenoides como sistemas de liberação controlada de fármacos: avanços e perspectivas. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 68, 103102, 2022.

HARBORNE, J. B.; *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*, 2nd ed., Chapman and Hall: London, 1984, p. 55-136.

HASHIMOTO, H.; URAKAWA, T.; MIMURO, M. Carotenoids and photosynthesis. *The physical chemistry of carotenoids in photosynthesis*. Berlin: Springer, 2016. p. 1-38.

ICH. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. International Conference on Harmonisation, 2005.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, v. 148, p. 350-382, 1987.

MÁRQUEZ-RUIZ, G.; HOLGADO, F.; VELASCO, J. Bioavailability and antioxidant activity of xanthophylls versus carotenes. *Trends in Food Science & Technology*, v. 112, p. 335-348, 2021.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. An overview of carotenoids, apocarotenoids, and vitamin A in agro-food, nutrition, health, and disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 64, n. 15, 2020.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; BOHM, V.; BOHN, T. Carotenoids: Considerations for their use in functional foods, nutraceuticals, and pharmaceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 19, n. 4, p. 1999-2049, 2020.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; MAPELLI-BRAHM, P.; BENÍTEZ-GONZÁLEZ, A. M. Carotenoids: considerations for their use in functional foods, nutraceuticals, and pharmaceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 20, n. 5, p. 5225-5256, 2021.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; MANDIC, A. I.; BANDIC, L. M. Recent advances in carotenoid analysis: challenges and solutions. *Food Chemistry*, v. 383, 132432, 2022.

- MERCADANTE, A. Z. Compostos carotenoides em alimentos: uma revisão sobre métodos de análise. *Química Nova*, v. 31, n. 6, p. 1418-1426, 2008.
- MILANI, A.; BASIRNEJAD, M.; SHAHBAZI, S. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *British Journal of Pharmacology*, v. 174, n. 11, p. 1290-1324, 2017.
- NASCIMENTO, L. S.; SANTANA, A. C.; SILVA, M. A. Desafios na análise de carotenoides em frutas nativas: a necessidade de padrões de referência. *Food Chemistry*, v. 372, 131234, 2022.
- NOVAIS, Stéfano Araújo. Cromatografia. 2023. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/cromatografia.htm>. Acesso em: 29 maio 2025.
- PRIETO, C.; MOURE, A.; ANDRADE, M. J. Supercritical fluid extraction of carotenoids: A review. *Journal of Food Engineering*, v. 277, 109932, 2020.
- RIVERA, S. M.; CANELA-GARAYOA, R. Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials. *Journal of Chromatography A*, v. 1224, p. 1-10, 2012.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenes and xanthophylls as antioxidants. *Food carotenoids: chemistry, biology, and technology*. Chichester: Wiley, 2016. p. 193-228.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. *Food carotenoids: Chemistry, biology, and technology*. Chichester: Wiley, 2016.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Update on natural food pigments: carotenoids. *Current Opinion in Food Science*, v. 26, p. 49-56, 2019.
- RODRÍGUEZ-BERNALDO DE QUIRÓS, A.; COSTA, H. S.; SÁNCHEZ-MATA, M. C. Chromatographic techniques for carotenoid analysis in foodstuffs. *Current Analytical Chemistry*, v. 13, n. 1, p. 36-52, 2017.
- SÁNCHEZ-CAMARGO, A. P.; VALDÉS, A.; IBÁÑEZ, E. Recent advances in the extraction and purification of carotenoids from natural sources. *Journal of Chromatography A*, v. 1593, p. 137-149, 2019.

SANTIAGO, M. C. P. A.; NUNES, I. L.; FERREIRA, V. R. F. Green extraction techniques for carotenoids. *Trends in Food Science & Technology*, v. 108, p. 258-272, 2021.

ZECHMEISTER, L. *Cis-trans isomeric carotenoids, vitamin A and arylpolyenes*. New York: Academic Press, 1962.

ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Determinação de carotenoides em frutas por CLAE-DAD: uma revisão. *Química Nova*, v. 31, n. 2, p. 304-309, 2008.

ZORZETE, P.; SANTOS, M. S.; MERCADANTE, A. Z. Avanços na análise de carotenoides por HPLC-DAD-MS/MS: aplicações em frutas tropicais. *Journal of Chromatography A*, v. 1641, 461997, 2021.