



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

**ANA LETÍCIA PIRES DOS SANTOS**

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NO PEDÚNCULO DE  
CAJU**

**FORTALEZA**

**2017**

ANA LETÍCIA PIRES DOS SANTOS

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NO PEDÚNCULO DE CAJU

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação em Química Industrial.

Orientadora Pedagógica: Profa. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira (UFC)

Orientador Profissional: Dr. Edy Sousa de Brito (EMBRAPA)

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S233d Santos, Ana Leticia Pires dos.  
Determinação de compostos fenólicos no pedúnculo de caju / Ana Leticia Pires dos Santos. – 2017.  
57 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,  
Curso de Química, Fortaleza, 2017.  
Orientação: Prof. Dr. Edy Sousa de Brito.  
Coorientação: Profª. Dra. Maria da Conceição Ferreira Oliveira.
1. Anacardium occidentale. 2. Compostos Fenólicos. 3. Flavonóides. I. Título.

CDD 540

---

ANA LETÍCIA PIRES DOS SANTOS

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NO PEDÚNCULO DE CAJU

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação em Química Industrial.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA:

---

Dr. Edy Sousa de Brito

EMBRAPA Agroindústria Tropical

---

Profa. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Fátima Miranda Nunes

Universidade Federal do Ceará (UFC)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por guiar meus passos todos os dias e por ouvir minhas orações.

Agradeço a minha família por todo apoio e confiança. Em especial aos meus pais Paulino e Ana Cláudia e minha irmã Ana Paula pelo amor, paciência e ensinamentos ao longo da minha vida.

Agradeço ao Dr. Edy Sousa de Brito por ter me aceitado no LMQPN (EMBRAPA Agroindústria Tropical) e pela orientação durante a realização deste trabalho.

A prof. Dra Maria da Conceição (UFC) pela orientação, carinho e afeto durante os anos que trabalhei no laboratório de pesquisa de Biotecnologia e Síntese Orgânica (LABS). Agradeço pela oportunidade e confiança.

A profa. Dra Fatima Miranda Nunes (UFC), minha primeira orientadora de pesquisa. Agradeço imensamente pela oportunidade concedida e pelos ensinamentos cedidos.

Agradeço a todos os integrantes do laboratório de pesquisa, Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica, em particular a Glady, por ter me ajudado em vários momentos, ao Onassis pelos esclarecimentos das dúvidas durante o curso, à Dani, Bruna, Paulo, Tati, Thiago, Aquino, Maria e todos do laboratório pelos momentos de descontração.

A todos os colegas do laboratório de Produtos Naturais, em particular à Lorena, pelas dúvidas esclarecidas e pelo imenso apoio.

Aos meus melhores amigos de curso Connie, Lucas e Camila pela convivência, alegrias, segredos compartilhados e por me ajudarem nessa jornada.

Aos demais colegas e amigos, Lucas Sampaio, Karina, Gabi, Ada, Max, Khesley, Clara, Hanna, Mayara, Diego, Agda, Jamilly e Katarina pela amizade.

Ao Severo (molier), amizade a qual levarei para vida inteira

À Marlene, minha professora inspiradora.

A Embrapa Agroindústria Tropical e a toda sua equipe, pelo estágio e recursos e assistência prestados, permitindo o desenvolvimento deste trabalho.

A Universidade Federal do Ceará, a quem devo minha formação.

*“Eterno é tudo aquilo que dura uma fração de segundos, mas com tamanha intensidade, que se petrifica, e nenhuma força jamais o resgata. ”*

*Carlos Drummond de Andrade*

## RESUMO

O caju, um pseudofruto originado do cajueiro (*Anacardium occidentale*), apresenta um alto valor nutritivo, rico em vitamina C, além de conter carotenoides e compostos fenólicos. Neste trabalho foi realizado a avaliação do perfil de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e o uso de extração em fase sólida para a identificação e caracterização dos constituintes químicos. O extrato do caju foi obtido através da extração usando cartucho C<sub>18</sub> com água e metanol como solventes de extração e, posteriormente submetidos a cromatografia líquida de fase reversa, obtendo doze frações que foram analisadas por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (UPLC-QTOF). A investigação química resultou na caracterização de nove substâncias. As estruturas de todas as substâncias identificadas foram elucidadas através de métodos espectrométricos (EM-IES) além de comparação com dados disponíveis na literatura.

**Palavras-chave:** *Anacardium occidentale*, Compostos fenólicos, Flavonóides.

## ABSTRACT

The cashew, a false fruit originated from the cashew tree (*Anacardium occidentale*), presents a high nutritious value, rich in vitamin C, besides containing carotenoids and phenolic compounds. In this work, an avaluation of the Nuclear Magnetic Resonance (NMR) profile and the use of solid phase extraction to identify and characterize chemical compounds was performed. The cashew extract was obtained with extraction using C<sub>18</sub> cartridge with water and methanol as solvents, thus submitted to reversed-phase liquid chromatography, obtaining twelve fractions which were analysed by Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometer (UPOLC-QTOF). The chemical investigation resulted in the characterization of nine substances. The structures of all the identified substances were discovered through spectromic methods (MS-ESI) besides comparing with the available data in literature.

**Keywords:** *Anacardium occidentale*, Phenolic Compounds, Flavonoids.

## LISTA DE FIGURAS

Fig. 1	Estrutura do ácido anacárdico	15
Fig. 2	Estrutura dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzoico	17
Fig. 3-	Estruturas dos derivados de Flavonóides.	18
Fig. 4-	Etapas de extração em fase sólida (SPE).	19
Fig. 5-	Representação do processo de detecção por espectrometria de massa	22
Fig.6-	Cartucho utilizado na extração de fase sólida	25
Fig.7-	Metodologia para a caracterização dos compostos fenólicos no pedúnculo de caju	28
Fig.8-	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ [600 MHz] do extrato bruto [ $\text{D}_2\text{O}$ ].	29
Fig. 9-	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ [600 MHz] CajuS após SPE [MeOD].	30
Fig. 10-	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ [600 MHz] do extrato bruto CajuB caracterizada	31
Fig.11-	Espectro RMN [600 MHz] HSQC da amostra CajuB.	31
Fig.12-	Espectro RMN [600 MHz] COSY da amostra CajuB.	32
Fig.13-	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ [600 MHz] da amostra CajuS caracterizada.	34
Fig.14-	Espectro RMN COSY [600 MHz] da amostra CajuS.	34
Fig.15-	Espectro RMN HMBC [600 MHz] da amostra CajuS.	35
Fig.16-	Espectro RMN HSQC [600 MHz] da amostra CajuS	35
Fig.17-	Cromatogramas ( $\lambda_{\text{max}}$ 254nm e $\lambda_{\text{max}}$ 340nm) da amostra CajuS.	36
Fig.18-	Cromatogramas da amostra CajuS obtidas por cromatografia preparativa ( $\lambda_{\text{max}}$ 274 nm).	37

Fig.19- Espectros de massas dos compostos: Isovitexin-O- glicosídeo, Myricetina-O-hexosídeo, Myricetina-O- ramnosídeo, Quercetina-O-hexosídeo, Naringenina, Ácido cinâmico, Cinnamoil glicosídeo, Quercetina- O- ramnosídeo e Kaempferol-O-hexosídeo  
40

Fig.20- Estrutura dos compostos Myricetina-O-hexosídeo, Myricetina-O- ramnosídeo e Ácido cinâmico. 43

Fig.21- Estrutura dos compostos Quercetina-O-hexosídeo, Cinnamoil glicosídeo e Quercetina-O- ramnosídeo. 44

Fig.22 Estrutura dos compostos Kaempferol-O-hexosídeo, Isovitexin-O- glicosídeo e Naringenina. 45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais compostos identificados de acordo com a literatura.....	55
Tabela 2 – Substâncias encontradas na amostra CajuS em modo de ionização negativo.....	33
Tabela 3 – Massas obtidas a partir do fracionamento da amostra CajuS.....	38
Tabela 4 – Componentes das frações no modo de ionização negativo.....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**CLAE:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**COSY:** Homonuclear COrrrelation SpectroscopY

**EMBRAPA:** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

**EM-IES:** Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray*

**HPLC:** High Performance Liquid Chromatography

**HMBC:** Heteronuclear Multiple Bond Correlation

**HSQC:** Heteronuclear Single Quantum Coherence

**MeOH:** Metanol

*m/z:* massa/carga

**ppm:** Partes por milhão

**RMN <sup>13</sup>C:** Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

**RMN <sup>1</sup>H:** Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

**SPE:** Solid Phase Extraction

**T<sub>R</sub>:** Tempo de retenção

**UPLC:** Ultra Performance Liquid Chromatography

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1- Caju .....	15
2.2- Compostos Fenólicos .....	16
2.3- Flavonóides .....	17
2.4- Fundamentações teóricas das técnicas de extração, purificação e identificação de compostos orgânicos.	
2.4.1- Extração de fase sólida .....	18
2.4.2- Cromatografia líquida de alta eficiência .....	19
2.4.3- Ressonância magnética nuclear .....	20
2.4.4- Espectrometria de massa .....	21
3. Objetivos	
3.1- Objetivos gerais .....	23
3.2- Objetivos específicos .....	23
4. Materiais e Métodos	
4.1- Seleção da matéria prima .....	24
4.2- Solventes .....	24
4.3- Preparo da amostra .....	24
4.4- Extração em fase sólida .....	24
4.5- Análise em CLAE- UV/VIS .....	25
4.6- Análise em cromatografia preparativa .....	26
4.7- Análise em ressonância magnética nuclear .....	26
4.8- Análise em espectrometria de massas .....	27
5. Resultados e Discussões	
5.1- Extração em fase sólida .....	29
5.2- Fracionamento da amostra e determinação dos compostos predominantes..	38
6. Conclusão.....	46
7. Referências .....	47

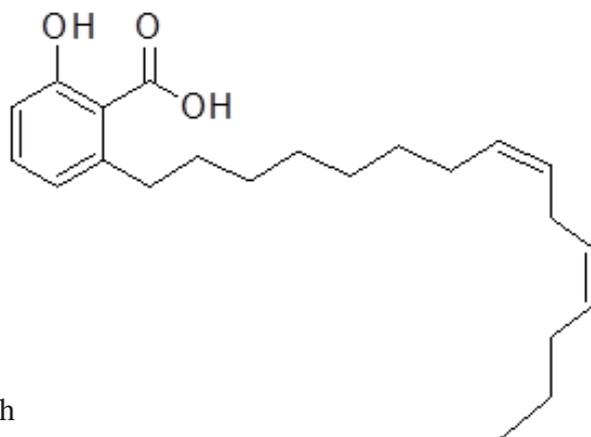
## 1. INTRODUÇÃO

As áreas tropicais do mundo apresentam uma grande variedade de espécies de frutas e o crescente interesse pelo seu consumo chama a atenção para frutas típicas comumente encontradas no mercado brasileiro, sendo o terceiro maior produtor de frutas no mundo (KOOLEN *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2014). O Brasil possui muitas espécies de frutas tropicais nativas e bem adaptadas com grande potencial de comercialização em natura ou na indústria de processamento (ALVES *et al.*, 2008). A demanda de frutas tropicais como abacaxi, acerola, caju, goiaba, cajá, dentre outras, aumentou devido a uma maior conhecimento de seu valor nutricional e terapêutico (ESPIN *et al.*, 2000).

A árvore do caju pertence à família *Anacardiaceae*, gênero *Anacardium L.*, espécie *Anacardium occidentale L.* O caju é um pseudofruto forrado por um pedúnculo ampliado e o fruto verdadeiro, com cerca de 3 cm e pericarpo marrom duro. O cajueiro ocupa uma importante posição entre as árvores frutíferas tropicais. A planta é encontrada na América, África, Ásia e Índia. O Brasil está entre um dos maiores produtores de castanha de caju com cerca de 70% da produção mundial. O cultivo do caju é uma das maiores atividades agrônômicas no nordeste do Brasil; quase toda produção é concentrada nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (LUBI *et al.*, 2000). A cultura do caju é considerada de grande importância socioeconômica da região nordeste do Brasil, em decorrência dos produtos industrializados oriundos do fruto e do pseudofruto (MAIA *et al.*, 2001). Uma vez que contempla uma cultura bem adaptada às condições existentes, ocupa mão-de-obra e gera renda num período de entre safra da maioria das outras culturas além de produzir matéria-prima para várias indústrias, que absorvem muita mão de obra, gerando divisas para a região e o país (CONABA, 2017).

De acordo com o IBGE, em 2016 foram produzidos 85Kg/Há, rendendo 103.206 milhões de dólares de exportação para o estado.

O pseudofruto apresenta alto valor nutritivo e vários compostos com capacidade antioxidante sendo rico em vitamina C, além de conter carotenoides (ASSUNÇÃO *et al.*, 2003), flavonoides (BRITO *et al.*, 2007), ácidos fenólicos, taninos (MICHODJEHOUN-MESTRES *et al.*, 2009), ácidos anacárdico representado na **Fig.1** (KUBO *et al.*, 2006; TREVISAN *et al.*, 2006) e antocianinas (CAVALCANTE *et al.*, 2013). Fontes ricas em antioxidantes têm sido consideradas importantes para a manutenção e promoção da saúde, o caju se enquadra nessa perspectiva.

**Fig.1:** Estrutura do ácido anacárdico

Fonte: ChemSketch

## 2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA:

### 2.1- O caju:

O caju possui duas partes: a castanha ou fruto propriamente dito e o pseudofruto (pedúnculo floral), que é a parte comumente vendida como fruta.

São conhecidas cerca de vinte variedades de caju, classificadas segundo a consistência da polpa, o formato, o paladar e a cor da fruta (amarela, vermelha ou roxo-amarelada, dependendo da variedade).

De grande variabilidade genética, o cajueiro é classificado basicamente em dois grupos, comum e anão, definidos em função do porte das plantas. É uma planta perene, de ramificação baixa e porte médio. O tipo comum ou gigante é o mais difundido, apresentando porte mais elevado e entre oito e 20 metros de envergadura (diâmetro) da copa. O tipo anão (*Anacardium occidentale L. var. nanum*) caracteriza-se pelo porte baixo – altura inferior a quatro metros –, copa homogênea, diâmetro do caule e envergadura de copa inferiores ao do tipo comum e precocidade, iniciando o florescimento entre seis e 18 meses. (SEBRAE,2016).

O cajueiro, *Anacardium occidentale L.* tem sua origem no Brasil e é bem estabilizada em várias regiões tropicais. A castanha de caju comestível é extremamente importante para o comércio de produtos agrícola. (EMBRAPA,1992; FILGUEIRAS *et al.*, 1999; LEITE *et al.*, 2002). No Brasil, cerca de 96% do cultivo do caju está localizado na região

nordeste. Sua produção é de grande importância social e econômica para muitos países. (ASSUNÇÃO *et al.*, 2003; BICALHO *et al.*, 2000)

Quimicamente, o caju contém alguns componentes como ácido resorcinólico, ácido anacárdico, carotenoides ( $\alpha$ - caroteno,  $\beta$ - caroteno e  $\beta$ - criptoxantina), vitamina C, fenóis e taninos. (ASSUNÇÃO *et al.*, 2003); também foram encontrados constituintes fenólicos na castanha de caju (PARAMASHIVAPPA *et al.*, 2001).

## 2.2 - Compostos fenólicos:

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Os ácidos fenólicos simples e os flavonóides são os compostos fenólicos mais comuns e estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (NARDINI *et al.*, 2004). Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI *et al.*, 1995). Os fenóis conjugados compreendem uma média de 24% do total de fenólicos presentes em matrizes de alimentos (ADOM *et al.*, 2002; SUN *et al.*, 2002).

Os compostos fenólicos podem ser encontrados em todos os alimentos e ingredientes alimentares à base de plantas. De acordo com a definição da adstringência, substâncias que manifestam o gosto amargo dos alimentos, os compostos fenólicos em alimentos podem contribuir para as propriedades adstringentes dos materiais alimentares correspondentes. Esses compostos podem ter outras propriedades sensoriais, ou podem suprimir ou melhorar as propriedades de outros compostos não fenólicos.

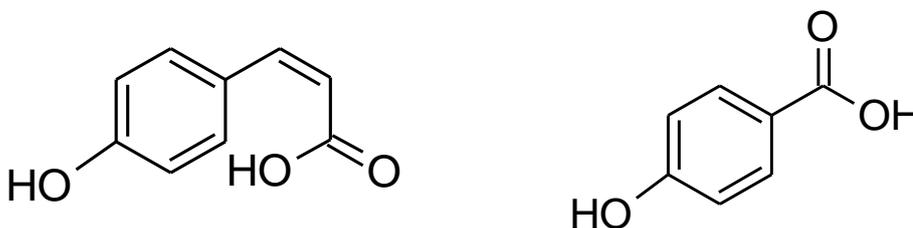
Os fenóis nas formas insolúveis são covalentemente ligados à célula através dos componentes estruturais da parede celular, tais como celulose, hemicelulose, lignina, pectina e proteínas estruturais (WONG, 2006). Frutas e vegetais têm a maioria de seus fitoquímicos nas formas conjugadas livres ou solúveis. Estes fitoquímicos desempenham funções importantes na parede celular, fornecendo tanto barreiras físicas e químicas, protegendo contra invasão de patógenos, astringência que combate ataques de insetos e animais, funções antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes (LIU, 2007; SANCHO *et al.*, 2001).

O caju tornou-se mais relevante com as novas evidências das propriedades farmacológicas dos fitonutrientes reportados: agente antimicrobiano, antimutagênico,

inibição da uréase e atividade lipoxigenase (KUBO, *et al.*,2003; HA, *et al.*,2005). Os principais componentes bioativos presente no caju são: carotenoides, vitamina C e uma ampla variedade de fenóis (CAVALCANTE *et al*, 2003; SILVA *et al.*, 2014).

Ácidos fenólicos, como os ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzoico, demonstrados na **Fig.2**, formam ligações éter com lignina através do seu grupo hidroxila ligado ao anel aromático e ligações éster com estruturas de carboidratos e proteínas através do seu grupo carboxílico (BHANJA, *et al.*, 2009; LIU, *et al.*, 2007; PATHIRANA, *et al.*, 2006).

**Fig.2:** Estrutura dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzoico, respectivamente.



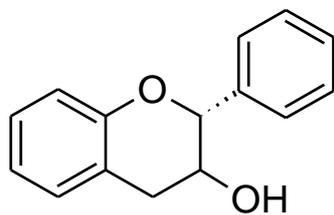
Fonte:ChemSketch

### 2.3- Flavonoides :

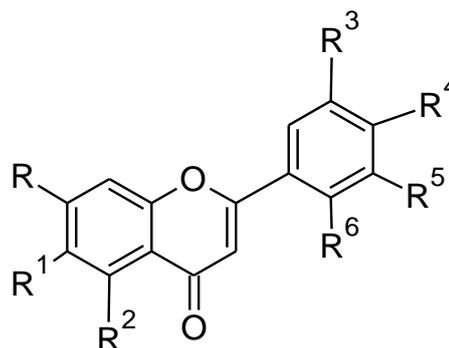
Os flavonoides são uma classe de compostos fenólicos de origem natural, que também já foram chamados até de vitamina P. Possuem uma série de propriedades farmacológicas atuantes no organismo humano, capazes de trazer inúmeros benefícios para a saúde, têm-se o conhecimento de mais de oito mil substâncias desse grupo.

Podem ser encontrados em diversas formas estruturais. As classes de flavonóides mais comuns incluem: flavanóis (derivados de 2-fenilcromen-4-ona), flavonas (derivadas de 3-fenilcromen-4-ona), antocianinas (derivadas de 4-fenilcromen-4-ona) e isoflavonas (derivadas de 3-fenilcromen-4-ona ou 3-fenilcromano). Entretanto, a maioria dos representantes dessa classe apresentam um esqueleto aromático C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, um anel cromano (anel benzênico-A + anel heteronuclear-C) ligado a um anel benzênico (anel B), totalizando 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas (BORDENAVE, *et al.*, 2013).

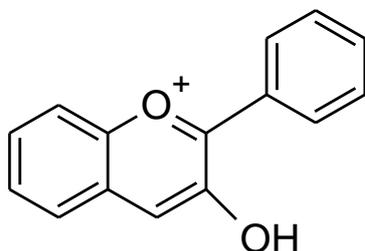
Possuem propriedades antioxidantes que tem sido associada com prevenção de doenças humanas como diabetes, hiperlipidemia, câncer e doenças cardíacas.

**Fig.3:** Estruturas dos derivados de Flavonóides.

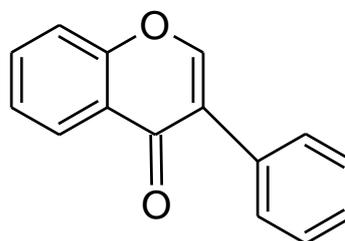
Flavanóis



Flavonas



Antocianinas



Isoflavonas

Fonte: ChemSketch

## 2.4-Fundamentações teóricas das técnicas de extração, purificação e identificação de compostos orgânicos.

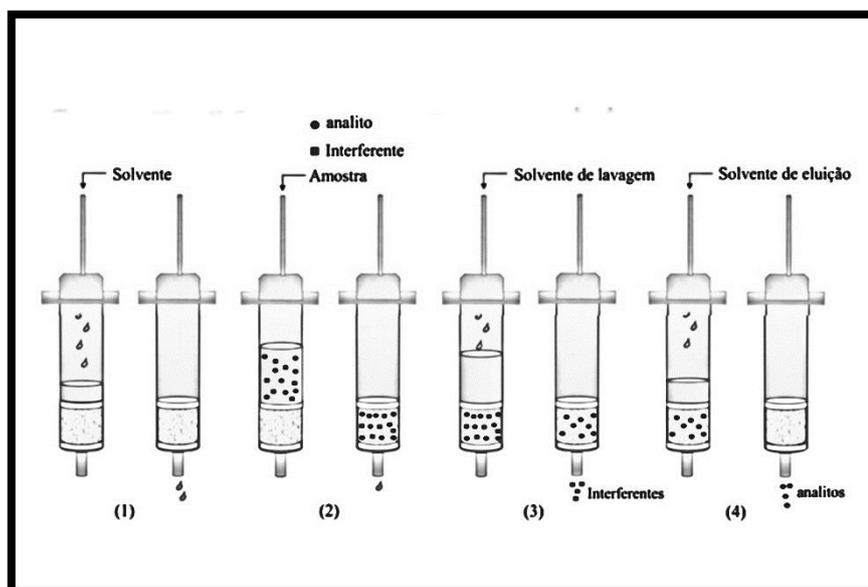
### 2.4.1-Extração em fase sólida (*Solid Phase Extraction – SPE*)

Esta técnica é uma técnica de extração que envolve a interação dos compostos da amostra com uma fase extratora, que pode ser um adsorvente sólido ou um sorvente. Os analitos são seletivamente adsorvidos/sorvidos na fase extratora, sendo posteriormente eluídos com solvente adequado (Queiroz; Collins; Jardim, 2001; Dean, 2009).

A fase extratora é constituída de um composto orgânico que recobre ou está quimicamente ligado a um suporte de sílica granulada. Os compostos da fase extratora podem ser apolares ou moderadamente polares, sendo a seleção da fase ideal para o preparo da amostra baseada na polaridade do(s) analito(s). As interações entre os compostos da amostra e a fase extratora podem ocorrer via interações intermoleculares de van der Waals, como forças de London, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido, ligações de hidrogênio e interações iônicas. Durante a extração, a amostra líquida é inserida no cartucho, sendo aplicada pressão com uma seringa para forçar a passagem da amostra através da fase extratora. A amostra líquida é inserida sob pressão no topo do

cartucho, de forma que as moléculas orgânicas da amostra são extraídas e concentradas na fase extratora. Finalmente, os compostos extraídos são desalojados através da passagem de um solvente como metanol, obtendo-se o extrato final com os analitos pré-concentrados para posterior análise cromatográfica (SKOOG *et al.*, 2004; DEAN, 2009). A etapas de extração estão representadas na **Fig.4**.

**Fig.4:** Etapas de extração em fase sólida (SPE).



Fonte: NASCIMENTO *et al.*, 2000

#### 2.4.2-Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é o tipo mais versátil e mais amplamente empregado de cromatografia por eluição. Essa técnica é utilizada pelos químicos para separar e determinar espécies em uma grande variedade de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos. Na cromatografia líquida, a fase móvel é um solvente líquido, o qual contém a amostra na forma de uma mistura de solutos. (Skoog *et al.*, 2004).

A cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC – ultra performance liquid chromatography) desenvolveu-se a partir da introdução das partículas de fase estacionárias (FE) porosas de 2  $\mu\text{m}$ , em resposta à busca contínua por análises mais rápidas e eficientes. A UPLC fundamenta-se nos mesmos princípios de separação da CLAE, tendo como principais diferenças as colunas cromatográficas empregadas que são de dimensões reduzidas (5-10 cm de comprimento e diâmetros internos de 1-2,1 mm), recheadas com partículas de FE  $\leq 2 \mu\text{m}$ , as quais, juntamente com as altas velocidades lineares de fase móvel (FM) aumentam a resolução e a detectabilidade, diminuem o tempo das análises, porém geram um aumento significativo na pressão cromatográfica. Em vista

disso, um equipamento adequado, capaz de operar a altas pressões, acima de 1000 bar (15000 psi), é empregado para extrair um desempenho cromatográfico máximo dessa técnica (MALDANER,2009).

A cromatografia líquida preparativa é utilizada para o fracionamento e/ou purificação de substâncias. A maior diferença entre a cromatografia analítica e a cromatografia preparativa é o que acontece com a amostra após a saída da coluna. Considerando que a amostra segue diretamente para o recipiente de resíduos na cromatografia analítica, na cromatografia preparativa existe o coletor de frações. O coletor de frações desvia o fluxo para um recipiente, usando uma válvula de desvio que pode ser ligada, por exemplo, por programação de tempo ou com base no sinal do detector. A amostra é recolhida como uma solução com a fase móvel e recuperada por evaporação (MALDANER,2009).

### **2.4.3-Ressonância Magnética Nuclear**

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica analítica versátil que pode ser utilizada para a análise e elucidação estrutural de compostos químicos. A elucidação estrutural se baseia na detecção das propriedades magnéticas dos núcleos (LUZYANIN *et al.*,2010).

Para que um determinado isótopo possa ser analisado por RMN é necessário que este tenha propriedades específicas de spin, massa ímpar ou número atômico ímpar ou ambos ímpares. Entretanto, as aplicações de RMN a núcleos que não o  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  são limitadas, devido à baixa sensibilidade ou baixa abundância natural destes outros núcleos (PAVIA *et al.*, 2015).

A amostra é colocada a um intenso campo magnético onde os núcleos ficam alinhados com um campo  $B_0$  e são induzidos a absorver energia mudando a orientação de spin em relação ao campo, quando a frequência do aparelho corresponde exatamente à frequência de ressonância característica do núcleo (que se designa por frequência de Larmor). Desligando a fonte de radiação eletromagnética, os núcleos retomam a sua orientação original emitindo uma radiação que origina um sinal elétrico. Após tratamento matemático (transformação de Fourier - FT) é possível traçar um gráfico da intensidade do sinal em função da frequência aplicada a que chamamos espectro de RMN (PAVIA *et al.*, 2015).

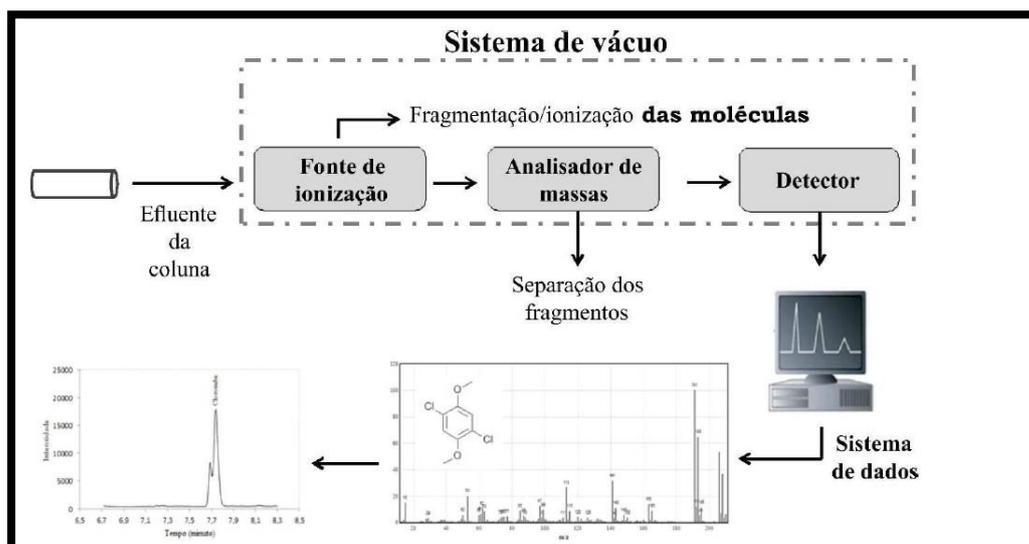
#### 2.4.4 -Espectrometria de Massas

Os princípios fundamentais da espectrometria de massas datam do fim dos anos 1890, quando J.J Thomson determinou a razão massa/carga do elétron, e Wien estudou a deflexão magnética de raios anódicos e determinou que os raios eram carregados positivamente. (PAVIA *et al*, 2015).

O espectrômetro de massas (EM) como detector de um cromatógrafo líquido é um dos dispositivos de detecção mais versáteis, fornecendo maior riqueza de informações sobre a amostra analisada, o processo está representado na **Fig.5**. A combinação da cromatografia líquida com a espectrometria de massas poderia ser vista como a fusão ideal entre a separação e a detecção. As fontes de ionização mais comuns são a ionização por *eletrospray* e a ionização química à pressão atmosférica. A combinação de CLAE e espectrometria de massas proporciona uma alta seletividade, uma vez que picos não-resolvidos podem ser isolados monitorando-se somente um valor de massa selecionado. A técnica de CL-MS pode fornecer uma impressão digital de um eluato em particular em vez de recorrer ao tempo de eluição, como na CLAE convencional. A combinação também pode fornecer a massa molar e informação estrutural e uma análise quantitativa exata (SKOOG *et al.*, 2006).

De modo geral, os espectrômetros de massa convencionais, são constituídos de três partes fundamentais: a fonte de ionização, o analisador de massas e o detector, que é o dispositivo que efetivamente monitora os fragmentos iônicos separados pelo analisador de massas, conforme sua relação  $m/z$  (SKOOG *et al.*, 2006).

As moléculas entram no sistema do espectrômetro de massas, chegando à fonte de ionização do instrumento, são ionizadas. Os íons gerados são transferidos para a região do analisador de massas, onde são separados de acordo com a sua relação massa-carga ( $m/z$ ) e transferidos à multiplicadora de elétrons. A multiplicadora de elétrons monitora a corrente de fragmentos oriunda do analisador, produz um sinal relativo a cada um dos fragmentos, amplifica-os e transmite para o sistema de dados, onde é registrado um gráfico da abundância relativa de cada fragmento versus relação massa/carga ( $m/z$ ), denominado espectro de massas. Os sinais para cada fragmento  $m/z$  são expressos na forma de picos, com alturas proporcionais a sua abundância relativa (SILVERSTEIN *et al*, 2007).

**Fig.5:** Representação do processo de detecção por espectrometria de massa

Fonte: Nascimento, R.F *et al*, 2000

### **3. Objetivos:**

#### **3.1- Objetivos Gerais:**

Caracterizar os compostos fenólicos presentes no pedúnculo de caju

#### **3.2- Objetivos Específicos:**

- Separar os compostos presentes no caju utilizando cromatografia líquida (HPLC-analítico)
- Fracionar a amostra utilizando cromatografia líquida preparativa (HPLC-preparativo)
- Caracterizar a amostra e as frações utilizando a espectrometria de massas (MS) e a ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS:**

### **4.1- Seleção da Matéria Prima:**

Para a realização dessa pesquisa foram utilizados pedúnculos do clone do cajueiro CP09 (Clone Pacajus) fornecidas pela Estação da Embrapa Agroindustrial Tropical

### **4.2- Solventes:**

Utilizou-se água deionizada e purificada pelo sistema Milli-Q (Millipore) com condutividade de 10MΩ cm. O solvente utilizado foi Metanol grau HPLC (Tedia,EUA) filtrado em membrana 0,45μm, Metanol deuterado (MeOD) e água deuterada (D<sub>2</sub>O).

### **4.3- Preparação da amostra:**

Para este estudo utilizou-se 6 pedúnculos de caju (CajuB) de aproximadamente 660,00g, onde foram cortados e liofilizados, utilizando o liofilizador Liobras Liotop modelo LP 510, por aproximadamente 50 h. Em seguida as amostras foram maceradas e pesadas em uma balança analítica, modelo AY220 Marte®, a massa obtida foi 125,83g.

Separou-se 100,00g da amostra, já liofilizada, para serem extraídas com metanol-água (60:40, v/v), em seguida a amostra foi exposta a ondas ultrassônicas, utilizando o Sonicador Ultrasonic Cleaner 1400 (THORNTON/UNIQUE), a 40 kHz, 100W por 60 min. à temperatura ambiente.

O solvente foi separado do sólido por centrifugação, KC5 Kindly, a 2500 rpm por 15 minutos, depois o extrato foi seco utilizando o evaporador rotativo da marca IKA® modelo RV10, a 40° C sob pressão reduzida (20 mbar) e rotação de 100 rpm até a remoção total de metanol, e liofilizado para remoção da água.

### **4.4- Extração em fase sólida:**

Retirou-se 4,25g da amostra (CajuB), preparada com metanol-água, dividiu-se em 17 porções de 250,00mg, que foram dissolvidas em água mili-Q e homogeneizadas em banho de ultrassom por três minutos, adicionadas em cartuchos C<sub>18</sub> de 5,00g da Supelclean™ LC-18 SPE, passadas no sistema manifold acoplado à uma bomba de vácuo conforme o POP clean up de extratos vegetais por extração em fase sólida (EFS)- eliminação de interferentes (revisado em 30/05/2017). O uso dos cartuchos foi precedido por ativação do adsorvente com 30 mL de metanol, seguida do acondicionamento com 30 mL de água. Após aplicada no cartucho, a amostra foi eluída com 40 mL de água

Milli-Q. A fase aquosa foi descartada e o cartucho foi eluído com 50 mL do solvente MeOH/H<sub>2</sub>O (90:10 v/v), demonstrado na **Fig.6**, e a fase hidroalcoolica foi coletada em um balão de 100 mL.

**Fig. 6:** Cartucho utilizado na extração de fase sólida



Fonte: Próprio autor

A fração MeOH/H<sub>2</sub>O (90:10 v/v) foi destilada em um rotoevaporador da marca IKA® modelo RV10, a 40° C sob pressão reduzida (20 mbar) e rotação de 100 rpm até a remoção total de MeOH, o restante da solução foi congelado em ultrafreezer, CL200-86V, à -80°C e submetidas ao processo de liofilização por 4 dias. Este procedimento foi repetido nove vezes, rendendo 244,7 mg da amostra seca (CajuS) (Fração MeOH/H<sub>2</sub>O 90:10 v/v).

#### 4.5- Análise em CLAE-UV/VIS:

Preparou-se duas amostras (CajuS), com 8,00 mg cada, dissolvidas em 1500 µL de água destilada com 500 µL de metanol, filtradas através de um filtro de seringa PVDF de 0,45µm de 13mm previamente condicionado com metanol. Foram injetadas 50 µl para serem analisados em cromatografia analítica, no cromatógrafo *UFLC SHIMADZU*, detector PDA, coluna CLC- ODS(15 cm Shim-pack) equipado com injetor automático, detector UV-Vis com arranjo de diodo a uma faixa de comprimento de onda de 210 a 400nm (SPD-M20A), e um sistema de bomba ternário, em fluxo de 1 mL/min, volume

de injeção de 40  $\mu\text{L}$ , mantidas em forno termostático a 30°C. Os solventes empregados apresentavam grau HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O) e foram adequadamente filtrados através de membranas de nylon com poros de 0,45  $\mu\text{m}$  (Phenomenex). A fase móvel consistiu de uma combinação dos solventes A (95% de água mili-Q) e B (5% de metanol). O gradiente variou de 5% a 100% de B (v/v) em 45 minutos e manteve-se em 100% B até 53 minutos, em seguida a coluna volta para a condição inicial com 5% B em 53 minutos e permanece nessa condição até 60 minutos.

#### 4.6- Fracionamento em cromatografia preparativa:

Foram separadas 60,00 mg da amostra (CajuS), dissolvidas em 3,75 ml de água destilada com 2,25 ml de metanol (concentração 10 mg/mL), filtradas com filtro Nylon 0,45 $\mu\text{m}$ , 25mm condicionado previamente com MeOH, para serem analisadas em cromatografia preparativa, utilizando o instrumento cromatógrafo Waters 2555 (detector Waters UV-VIS 2489, coletor Waters III) coluna Waters Sunfire® (C<sub>18</sub> OBD 5 $\mu\text{m}$ , 19 x 100mm), fluxo de 10ml/min. A fase móvel consistiu de uma combinação dos solventes A (95% de água mili- Q) e B (5% de MeOH). O gradiente foi variado de 5% a 95% de B (v/v) em 20 minutos para 100% de B em 20,1 minutos e mantido em 100% B até 26,1 min. conforme o POP de fracionamento preparativo de *Phyllanthus* ssp.

Foram coletadas 12 frações de aproximadamente 10 mL cada (em triplicata), registradas com tempo de retenção de 9 a 21 minutos, as quais após liofilizadas forneceram as massas descritas nas **Tabela 3**.

#### 4.7- Análise em Ressonância Magnética Nuclear:

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram obtidos em um equipamento Agilent DD2 de 600 MHz (para núcleo de 1H) e equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”. As amostras foram preparadas dissolvendo-se aproximadamente 10 mg dos extratos CajuB em 600  $\mu\text{L}$  de água deuterada e 10 mg do extrato CajuS em 600  $\mu\text{L}$  de metanol deuterado.

Para realizar a quantificação, o pulso de 90° foi calibrado e a sonda sintonizada. Inicialmente a sequência de pulsos de inversão-recuperação foi empregada para estimar o tempo de relaxação dos núcleos amostrais. O valor encontrado foi distribuído entre o d1 (tempo de espera para relaxação dos núcleos) e o tempo de aquisição (AQ). Assim, os

espectros unidimensionais de  $^1\text{H}$  foram adquiridos com o tempo do pulso de  $90^\circ$  de 7,65 s; um tempo de espera entre cada aquisição de 2 s, AQ de 5,0 s, ganho de 32 transientes em uma janela espectral de 22 ppm e 32k de número de pontos reais a  $26^\circ\text{C}$ . Foi feita a supressão do sinal da água residual (HOD) em  $\delta$  4,9 ppm. O HSQC foi realizado com largura espectral em F2 de 16 ppm e F1 de 200 ppm, número de promediações (ns) de 48. Foi utilizado um tempo de espera entre cada aquisição de 1 s, com 192 pontos durante a aquisição (td) em F1 e 1.442 pontos durante a aquisição em F2. No processamento foram utilizados 1.024 pontos (si) em F1 e 2.000 pontos em F2.

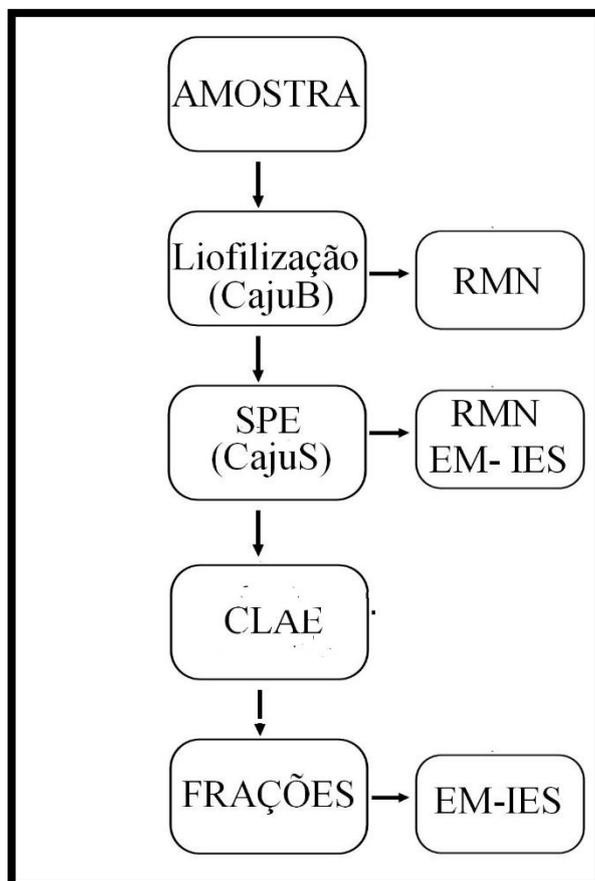
#### **4.8- Análise em espectrômetro de massas:**

A análise foi realizada em um sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo / Tempo de Voo (QtoF, Waters) pertencente a EMBRAPA. As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150 x 2,1 milímetros, 1,7  $\mu\text{m}$ ), temperatura fixa de  $40^\circ\text{C}$ , fases móveis água com 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2% a 95% B (15 min), fluxo de 0,4 mL / min e volume de injeção de 5  $\mu\text{L}$ .

O modo ESI<sup>-</sup> foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa a  $120^\circ\text{C}$ , temperatura de dessolvatação  $350^\circ\text{C}$ , fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h, cone de extração de 0,5 V, voltagem capilar de 2,6 kV. O modo ESI<sup>+</sup> foi adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte fixa de  $120^\circ\text{C}$ , temperatura de dessolvatação  $350^\circ\text{C}$ , fluxo do gás dessolvatação de 500 L / h e voltagem do capilar de 3,2 kV. Leucina encefalina foi utilizada como lock mass. O modo de aquisição foi MS<sup>E</sup>. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

Metodologia empregada no trabalho está representada na **Fig.7**.

**Fig.7:** Metodologia para a caracterização dos compostos fenólicos no pedúnculo de caju



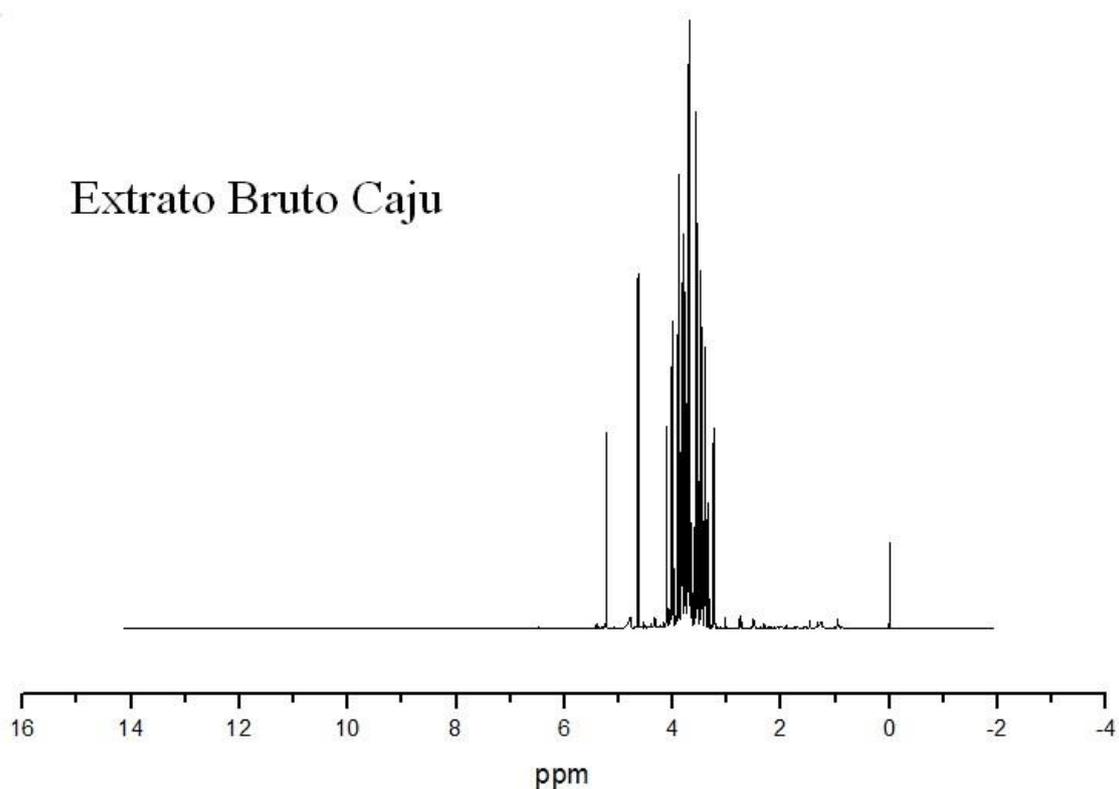
Fonte: Próprio autor

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES:

### 5.1- Extração em fase sólida:

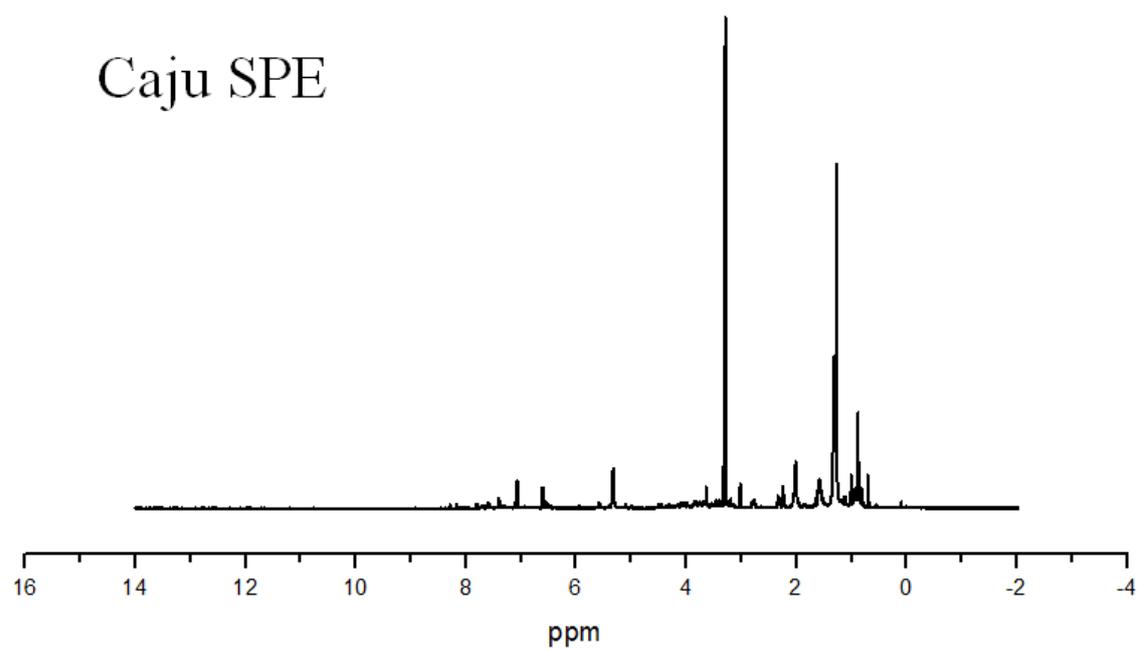
Considerando a elevada concentração de açúcares na amostra de caju (CajuB), realizou-se um tratamento na mesma utilizando o método de extração em fase sólida (SPE), com cartucho C<sub>18</sub> eluído com MeOH/H<sub>2</sub>O (90:10 v/v). Os espectros de RMN <sup>1</sup>H das **Fig.8** e **Fig.9** mostram que o processo de clean-up empregado removeu os açúcares livres, além das possíveis impurezas presentes na amostra, a qual foi constatada pelo desaparecimento dos sinais na faixa de 3,2-4,1 ppm característicos de hidrogênios dos glicosídeos, produzindo uma fração composta majoritariamente por compostos fenólicos.

**Fig.8:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H [600 MHz] do extrato bruto [D<sub>2</sub>O].



Fonte: Próprio autor.

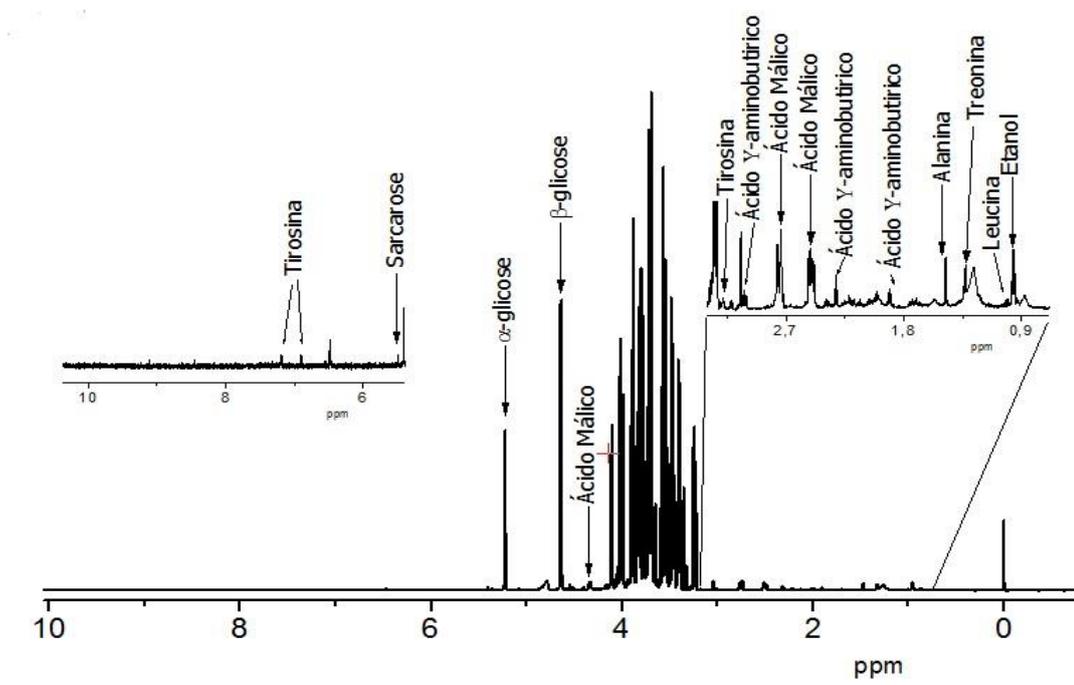
**Fig.9:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  [600 MHz] CajuS após SPE [MeOD].



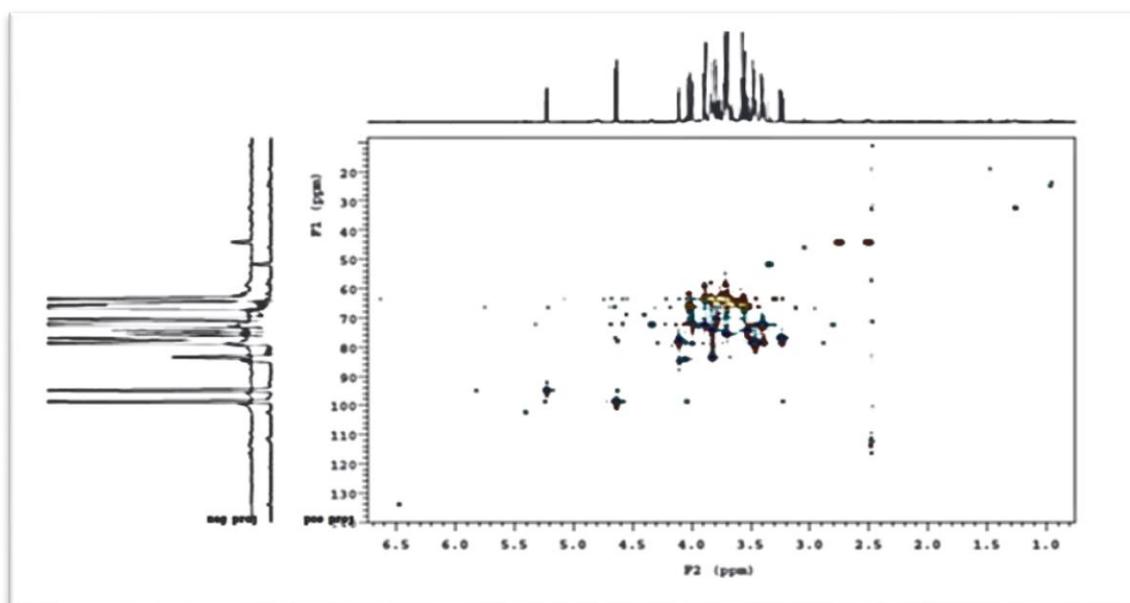
Fonte: Próprio autor.

A partir dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , HSQC e COSY foi possível caracterizar alguns compostos presentes no extrato bruto (CajuB) comparando com os compostos encontrados na literatura, mostrados na **Tabela 1**(anexo- pág. 55).

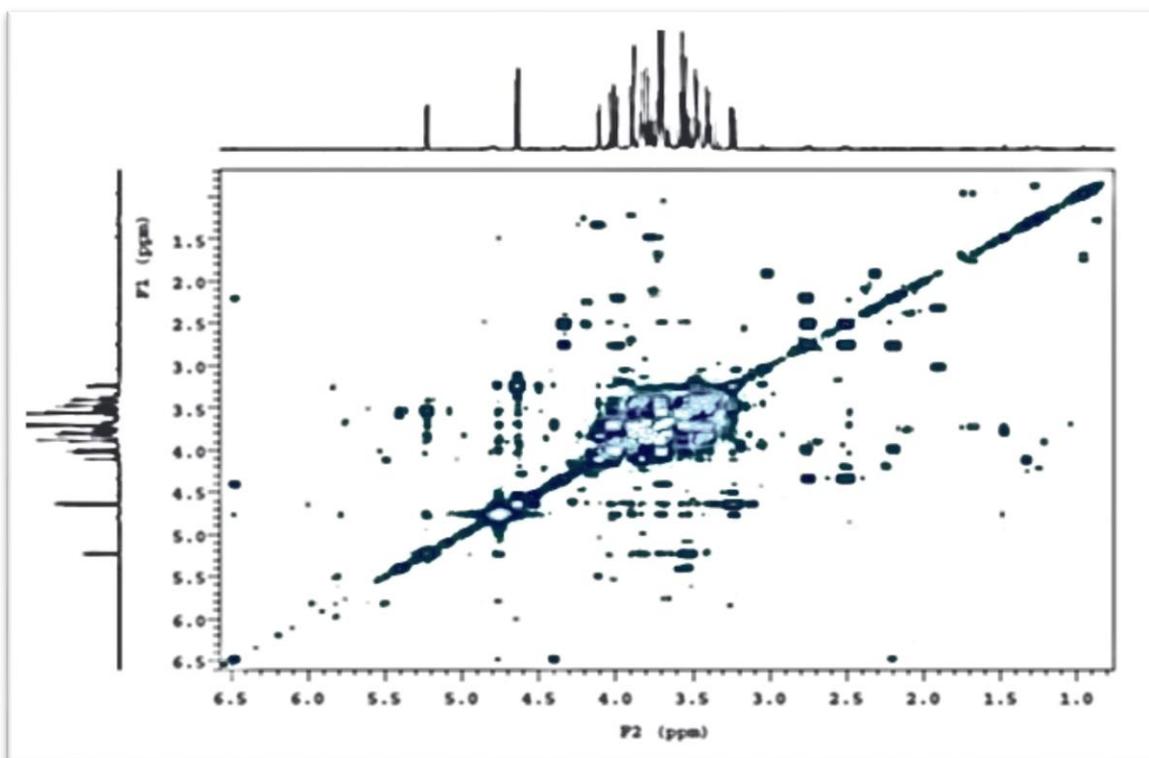
**Fig.10:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  [600 MHz] do extrato bruto CajuB caracterizada



**Fig.11:** Espectro RMN [600 MHz] HSQC da amostra CajuB



**Fig.12:** Espectro RMN [600 MHz] COSY da amostra CajuB

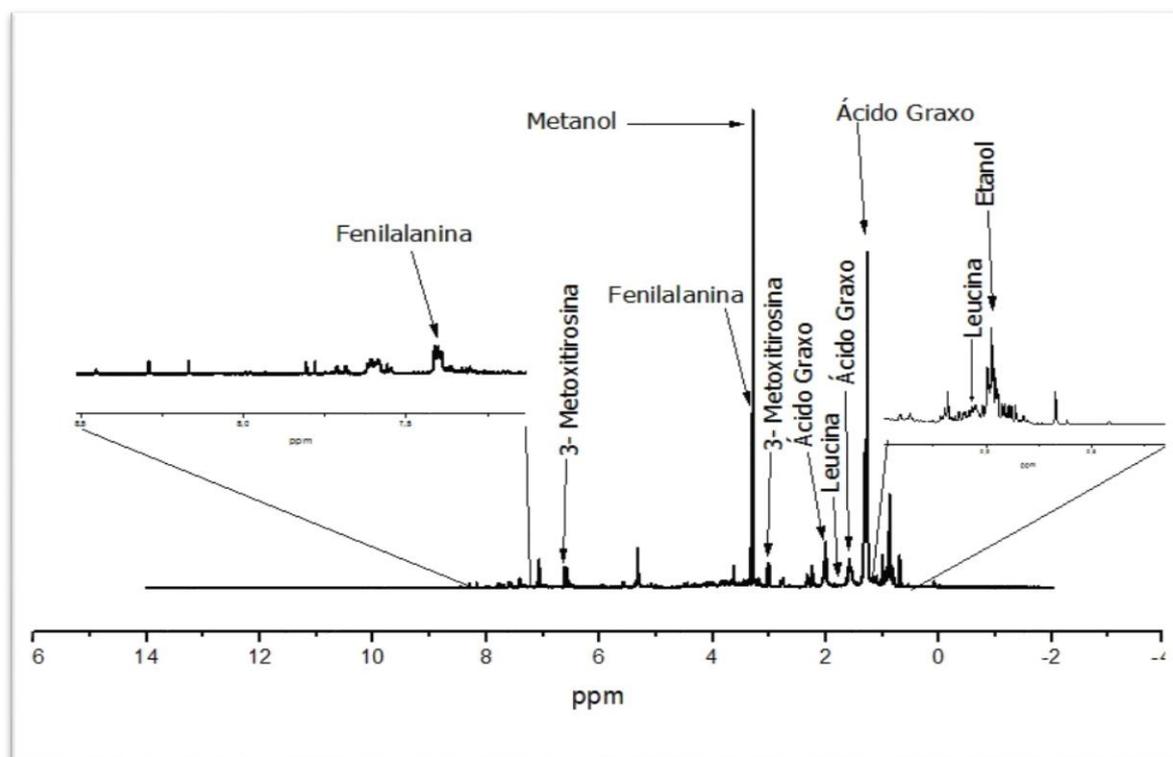


A caracterização também foi realizada com a amostra CajuS, com a ajuda dos espectros de  $^1\text{H}$ , COSY, HMBC, HSQC e com o auxílio dos espectros de massas. A **Tabela 2** (pág. 33) traz as estruturas caracterizadas, suas fragmentações de maior intensidade e referências para validar as identificações desses metabólitos em outras amostras de *Anacardium occidentale*. Este resultado contribuiu para a caracterização química da amostra na análise por RMN.

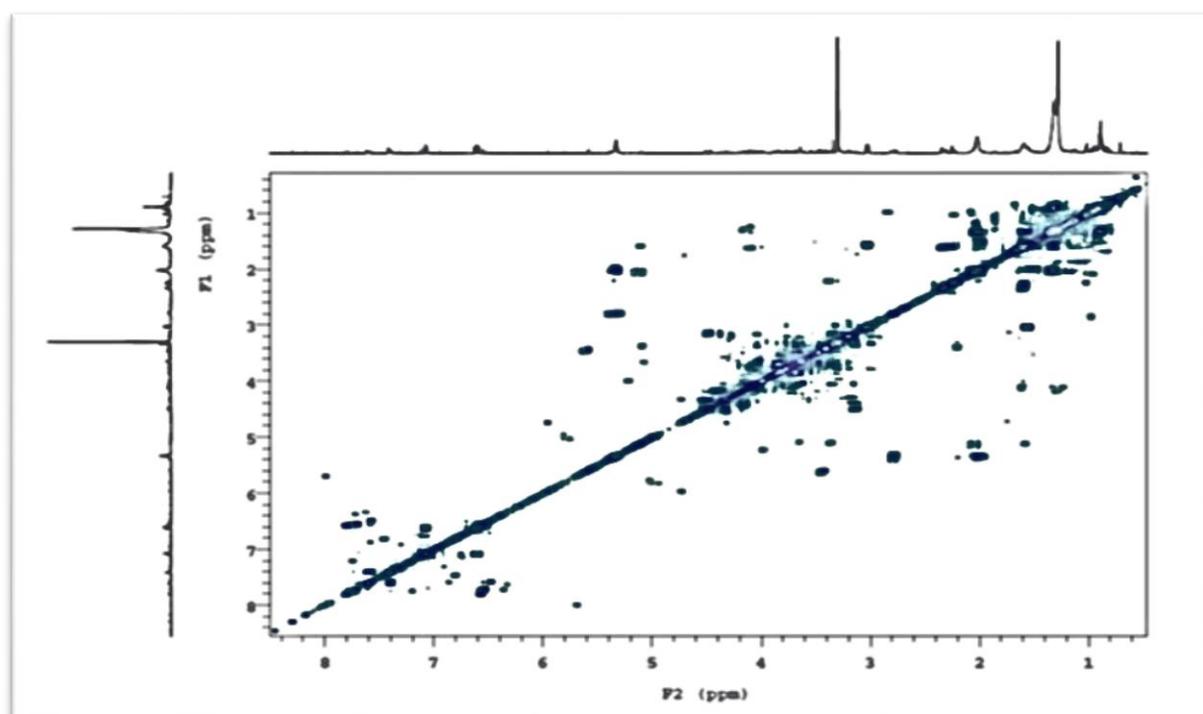
**Tabela 2:** Substâncias encontradas na amostra CajuS em modo de ionização negativo.

Pico	t <sub>r</sub> (min)	[M-H] <sup>-</sup> Observado	[M-H] <sup>-</sup> Calculado	Erro (ppm)	Íons fragmentos (MS/MS)	Fórmula Molecular	Tentativa de identificação	Ref.
1	0,99	533,1354		-2,3	383,0553; 191,0140; 173,0096	C <sub>18</sub> H <sub>29</sub> O <sub>18</sub>	Glicosídeo	Song. C. et al., 2012
2	1	192,0236	192,1235	-3,1	191,0146;129,0204	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	Ácido cítrico	HMDB 2017
3	1,66	131,0898	130,0946	-3,8	130,0855;125,0268	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	Leucina	HMDB 2017
4	2,12	164,0679	165	2,3	147,0439;130,0901;124,0453	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	Fenilalanina	HMDB 2017
5	3,45	593,1542	593	0,1	531,1727;410,1397;297,1392	C <sub>45</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub>	Vitexin-O- xiloside	Zhou,C et al., 2011
6	3,49	211,0790	211,2145	1,9	180,1001;130,0888; 124,0395	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub>	3-Metoxitirosina	HMDB 2017
7	3,66	593,1487	593, 301	-3,2	559,1866;385,1642; 124,0391	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>15</sub>	Isovitexin-2-O-β-D- glucoside	Ibrahim. M. et al., 2015
8	3,76	593,1520	593,301	2,4	431,1053;351,1305; 241,1195	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>15</sub>	Isovitexin-2-O-β-D- glucoside	Ibrahim. M. et al., 2015
9	4,09	609,1456	609, 1473	3,7	609,1491;477,0974;275,1084	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>16</sub>	Rutina	Yang, J. et al., 2001
10	4,19	431,0967	----	-2,6	385,1077;311,0588;267,0740	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	Desconhecido	----
11	4,45	401,1760	----	1,7	286,1015;164,0726	C <sub>26</sub> H <sub>25</sub> O <sub>4</sub>	Desconhecido	----
12	4,57	521,1418	----	-5,8	471,1437;311,1010;149,0492	C <sub>28</sub> H <sub>25</sub> O <sub>10</sub>	Desconhecido	----
13	4,76	519,2450	519,2447	0,8	505,2509;503,2491;417,1621;224,0880	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> O <sub>8</sub>	Leaoside	Kaewkrud et al., 2007
14	6,81	819,2349	819,2348	3,9	811,4518;781,4238; 311,1679	C <sub>38</sub> H <sub>43</sub> O <sub>20</sub>	Smilaside C	Chen, S.D et al., 2014
15	7,56	795,4590	794,9815	-1,8	760,3058;675,4200;311,1633	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> O <sub>14</sub>	Saponina	HMDB

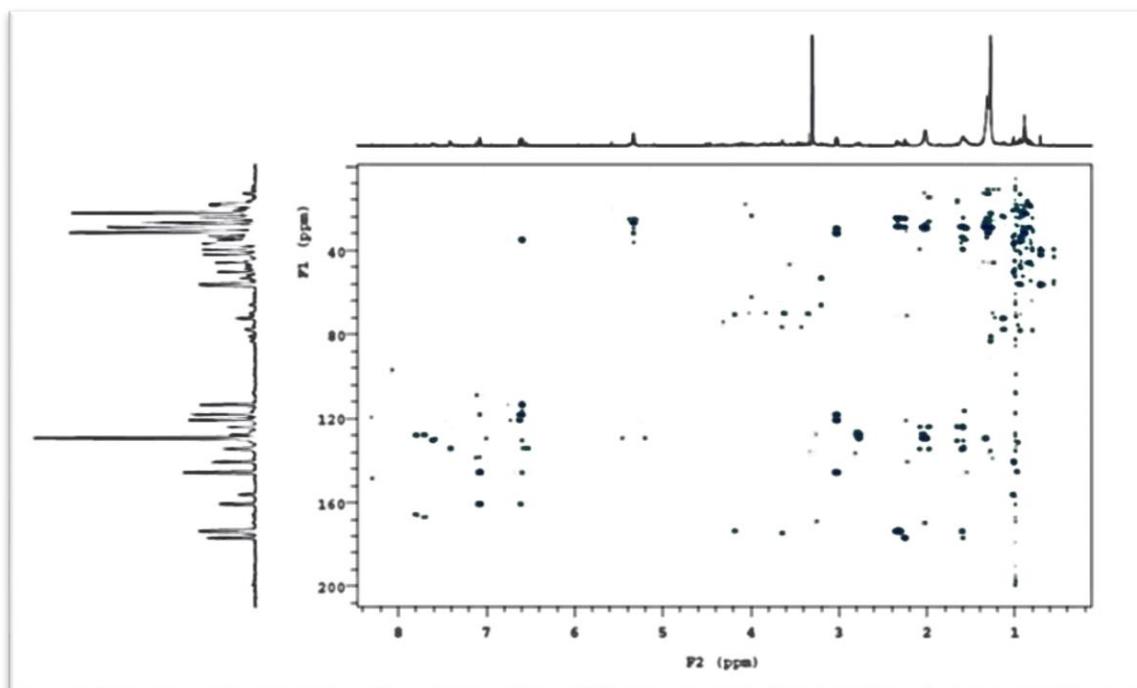
**Fig. 13:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  [600 MHz] da amostra CajuS caracterizada.



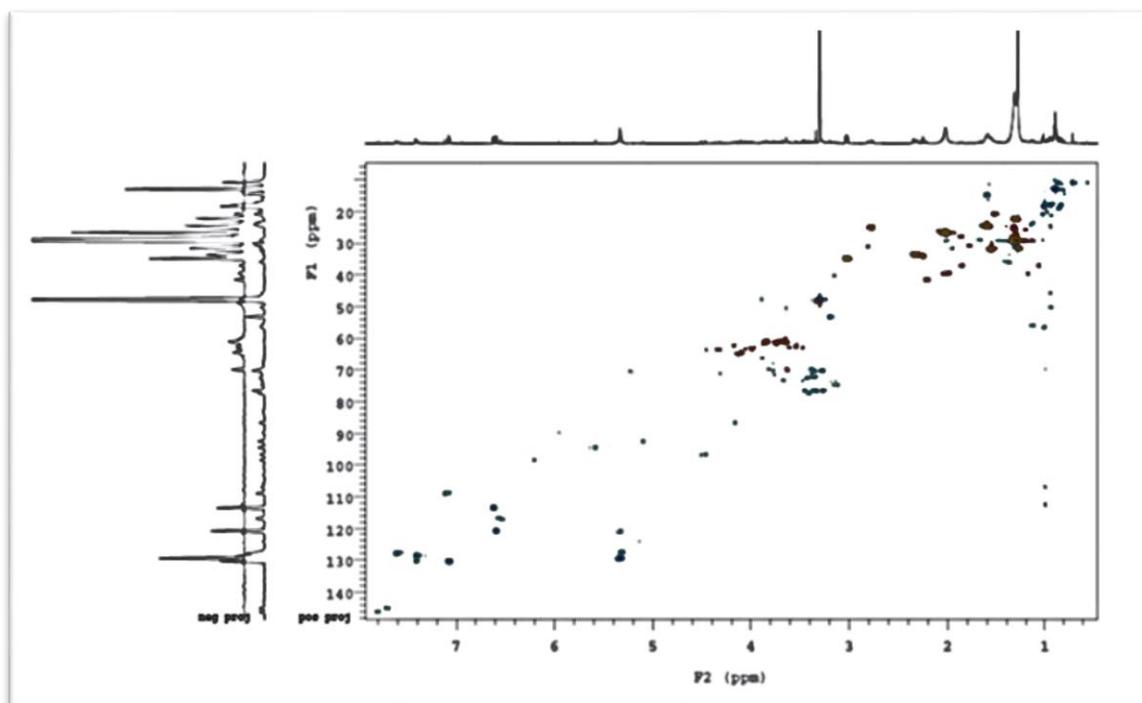
**Fig.14:** Espectro RMN COSY [600 MHz] da amostra CajuS.



**Fig.15:** Espectro RMN HMBC [600 MHz] da amostra CajuS.



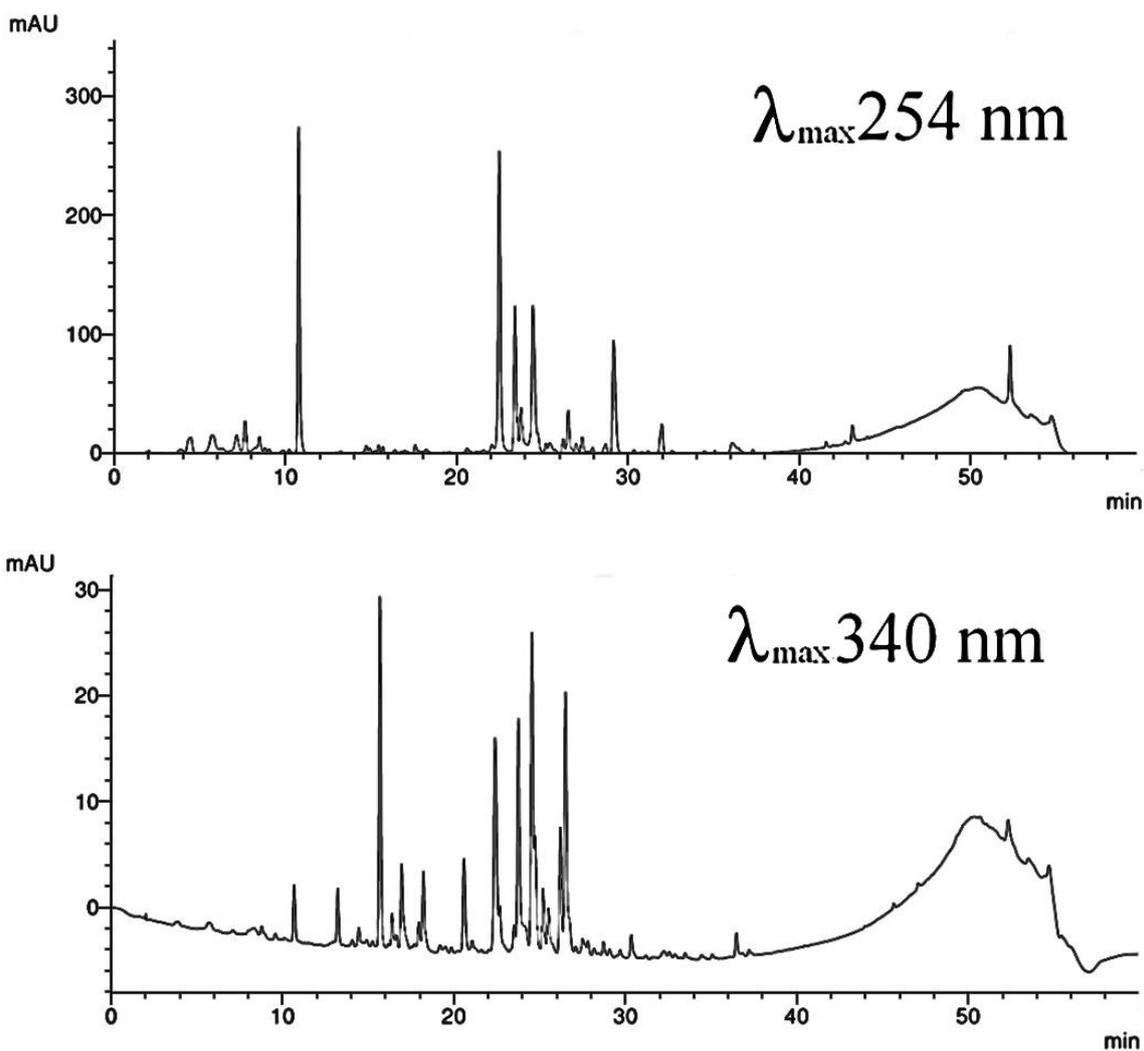
**Fig.16:** Espectro RMN HSQC [600 MHz] da amostra CajuS



## 5.2- Fracionamento e determinação dos compostos predominantes da amostra CajuS.

A amostra CajuS foi analisada em cromatografia líquida utilizando uma coluna analítica para obter um perfil cromatográfico da mesma. O método de análise foi modificado em função da característica do ácido anacárdico de absorver no comprimento de 340nm. A amostra foi examinada em dois comprimentos de onda,  $\lambda_{\max}$  254nm e  $\lambda_{\max}$  340 nm. Os respectivos cromatogramas estão representados na **Fig.17**.

**Fig.17:** Cromatogramas ( $\lambda_{\max}$  254nm e  $\lambda_{\max}$  340nm) da amostra CajuS

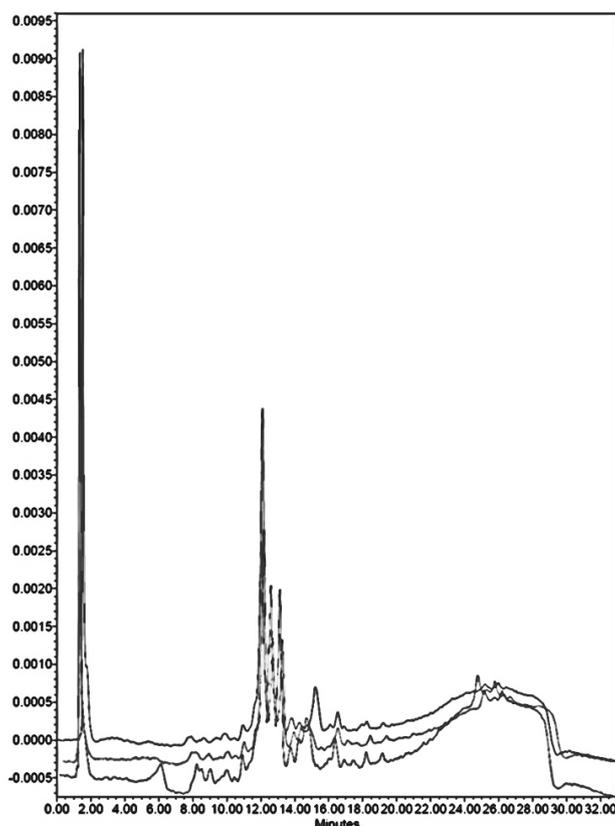


Fonte: Próprio autor

Foram fracionadas 60mg da amostra, na concentração de 10mg/ml, em cromatografia líquida utilizando coluna semi-preparativa. A reprodutibilidade das frações obtidas a partir do extrato CajuS foram estudadas a partir da reprodutibilidade do método baseando-se nos valores de tempo de retenção ( $t_r$ ) e na área das bandas cromatográficas.

Na **Fig 18** estão apresentados os cromatogramas das triplicatas da amostra no comprimento de onda de 274 nm, o qual foi selecionado em virtude de exibir uma melhor intensidade.

**Fig. 18:** Cromatogramas da amostra CajuS obtidas por cromatografia preparativa ( $\lambda_{\max}$  274 nm).



Pode-se notar, comparando os três cromatogramas apresentados, que a técnica de fracionamento da amostra, apresentou boa reprodutibilidade e precisão na análise.

As massas das frações obtidas foram pesadas, conforme apresentado na **tabela 3** (pág. 38), e analisadas no espectrômetro de massas, afim de se obter a identificação das mesmas.

**Tabela 3:** Massas obtidas a partir do fracionamento da amostra CajuS

Nome da fração	Quantidade Obtida	Tempo coletado
FrC 1	8,0 mg	9-10 min.
FrC 2	6,0 mg	10-11 min.
FrC 3	6,0 mg	11-12 min.
FrC 4	2,4 mg	12-13 min.
FrC 5	5,3 mg	13-14 min.
FrC 6	5,3 mg	14-15 min.
FrC 7	4,7 mg	15-16 min.
FrC 8	5,7 mg	16-17 min.
FrC 9	5,1 mg	17-18 min.
FrC 10	4,1 mg	18-19 min.
FrC 11	5,0 mg	19-20 min.
FrC 12	2,2 mg	20-21 min.
Total	59,7 mg	

As análises de UPLC-q-TOF das 12 frações originadas do fracionamento por HPLC preparativo do extrato metanólico do pedúnculo de caju (CajuS) proporcionou a detecção de 52 compostos no modo de ionização negativo, dos quais 16 foram devidamente identificados.

### 5.2.1- Caracterização química das frações

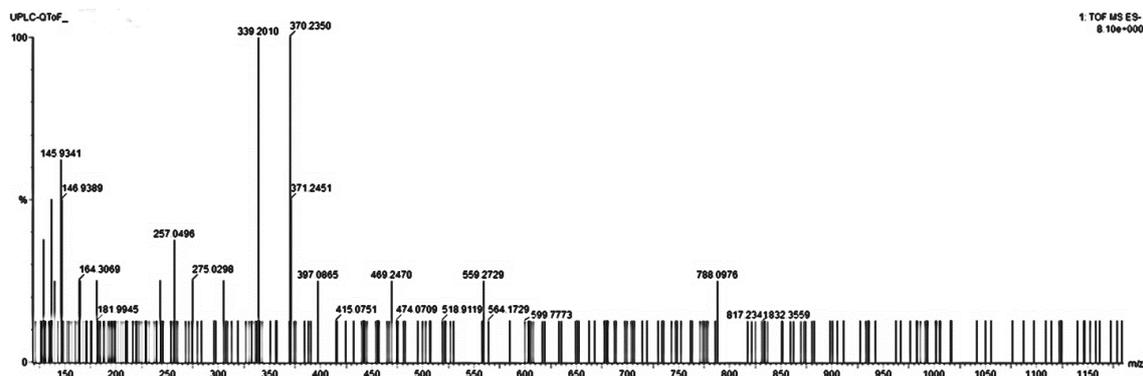
As frações FrC 3, FrC 4, FrC 5, FrC 6, FrC 7 e FrC 11 exibiram alguns picos majoritários no cromatograma de UPLC-q-TOF, sendo os compostos Ácido ester etíl hidroxibutanóico- Hexosídeo(1), Isovitexin-O- glicosídeo(2), Myricetina-O-hexosídeo(3), Myricetina-O- ramnosídeo(5) , Quercetina-O-hexosídeo(6), Naringenina (7), Ácido cinâmico(8), Cinnamoil glicosídeo(9), Quercetina- O- ramnosídeo(10) e Kaempferol-O-hexosídeo(11) como os componentes majoritários. A **Tabela 4** (pág. 39) mostra quais os componentes presentes em cada uma das frações.

**Tabela 4:** Componentes das frações no modo de ionização negativo

Pico	t <sub>r</sub> (min)	[M-H] <sup>-</sup> Observado	[M-H] <sup>-</sup> Calculado	Erro (ppm)	Íons fragmentos (MS/MS)	Fórmula Molecular	Tentativa de identificação	Ref.	Fração 3	Fração 4	Fração 5	Fração 6	Fração 7	Fração 11
1	3,28	293,1249	293,1242	-0,7	383,0553; 191,0140; 173,0096	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	Ácido ester etíl hidroxibutanóico o- Hexosídeo	Song. C. et al., 2012	+	+	----	----	----	----
2	3,66	593,1487	593, 301	-3,2	559,1866;385,1642; 124,0391	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>15</sub>	Isovitexin-O- glucosídeo	Ibrahim. M. et al., 2015	----	----	----	----	+	----
3	3,92	479,0845	479,0826	-2,5	317,0289;287,0245; 151,0030	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	Myricetina-O- hexosídeo	HMDB 2017	+	+	----	----	----	----
4	4,15	479,0826	----	2,1	130,0855;125,0268	C <sub>28</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	Desconhecido	HMDB 2017	+	----	+	+	----	----
5	4,28	463,0899	463,0877	3,7	317,0335;287,0956; 151,3168	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	Myricetina-O- ramnosídeo	Zhou,C et al., 2011	+	----	----	----	----	----
6	4,32	463,0899	463.0877	-1,1	301.0359; 300,0280	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	Quercetina-O- hexosídeo	HMDB 2017	----	+	+	----	----	----
7	4,58	271,0594	271.0606	-4,4	177,9086; 151,9160	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub>	Naringenina	Chen, S.D et al., 2014	----	----	----	----	----	+
8	4,69	148,1588	148,1586	4,8	143,0360; 130,0746; 125,0141	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	Ácido cinâmico	HMDB 2017	+	----	----	----	----	----
9	4,94	309,0969	309.0974	-0,6	355.1003; 207.0497;147.0417	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	Cinnamoil glicosídeo	Zhou,C et al., 2011	----	+	----	----	----	----
10	5,09	447,0930	447,0927	4,4	301,0332;300,0261; 151,0052	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub>	Quercetina - O ramnosídeo	HMDB 2017	----	----	+	+	+	----
11	5,93	461,1108	461.1084	5,2	285 procurar	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	Kaempferol-O- hexosídeo	HMDB 2017	----	----	----	+	----	----

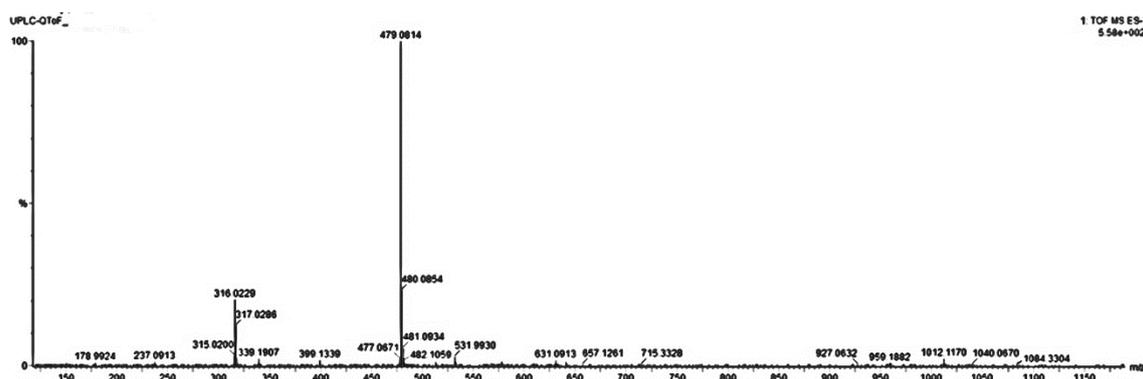
**Fig.19:** Espectros de massas dos compostos: Isovitexin-O- glicosídeo, Myricetina-O-hexosídeo, Myricetina-O- ramnosídeo, Quercetina-O-hexosídeo, Naringenina, Ácido cinâmico, Cinnamoil glicosídeo, Quercetina- O- ramnosídeo e Kaempferol-O-hexosídeo, respectivamente.

#### Isovitexin-O- glicosídeo



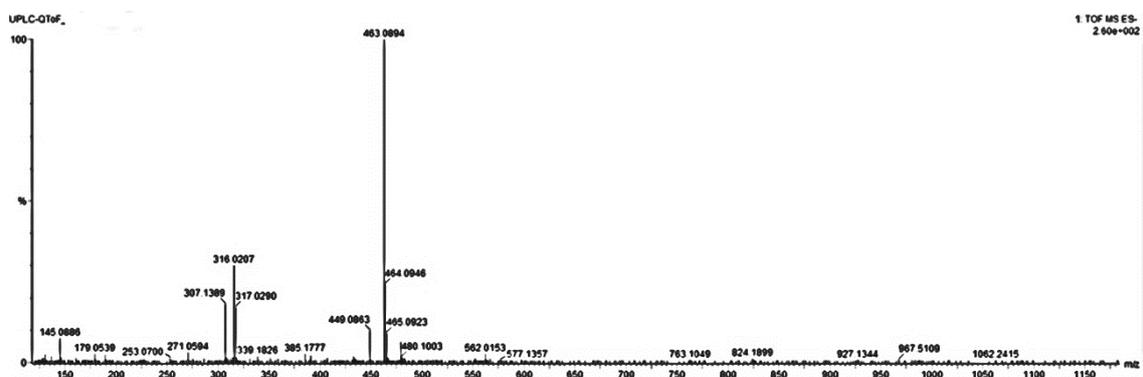
Fonte: Próprio autor.

#### Myricetina-O-hexosídeo



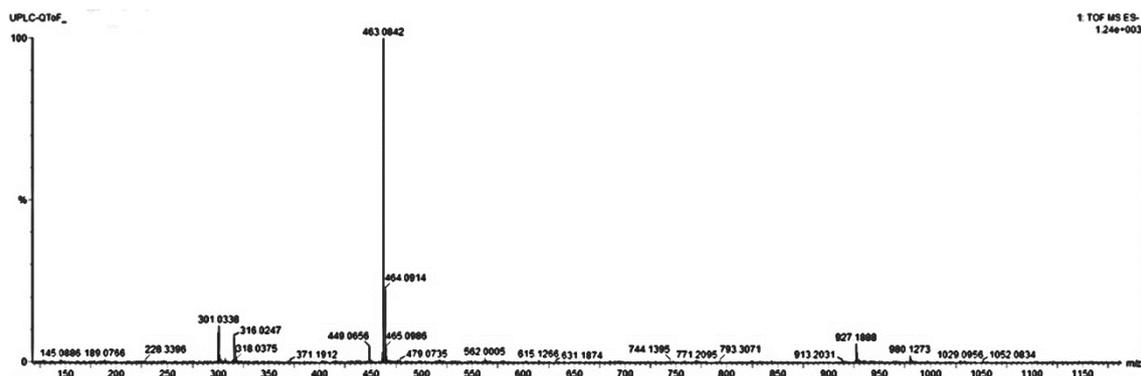
Fonte: Próprio autor.

#### Myricetina-O- ramnosídeo



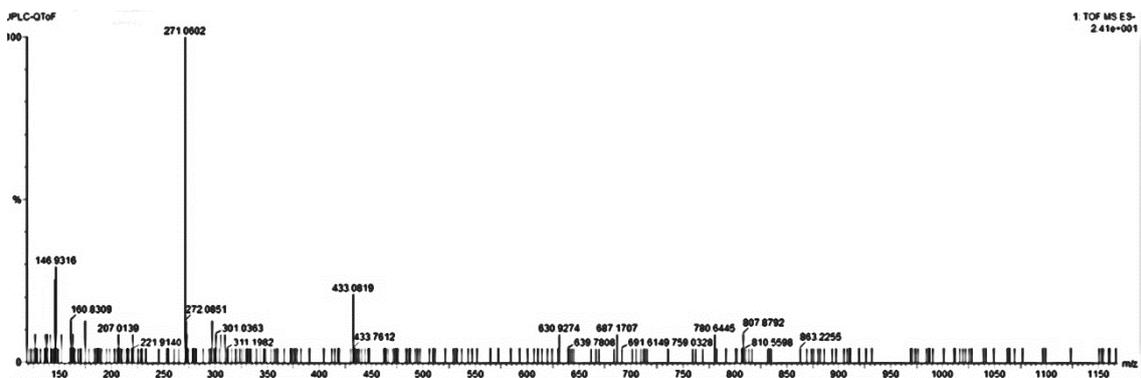
Fonte: Próprio autor.

## Quercetina-O-hexosídeo



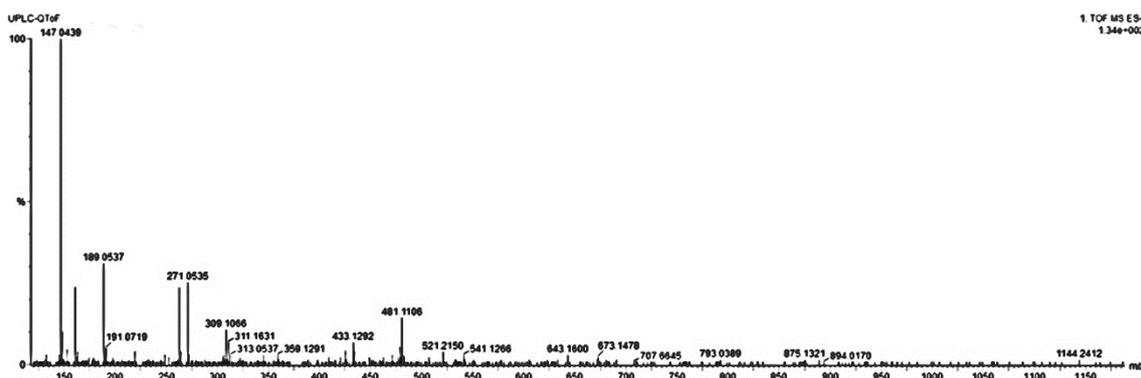
Fonte: Próprio autor.

## Naringenina



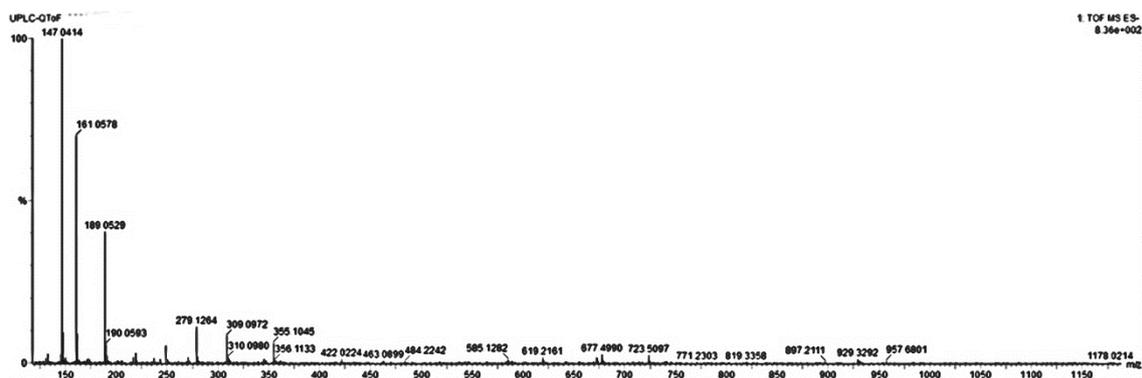
Fonte: Próprio autor.

## Ácido Cinâmico



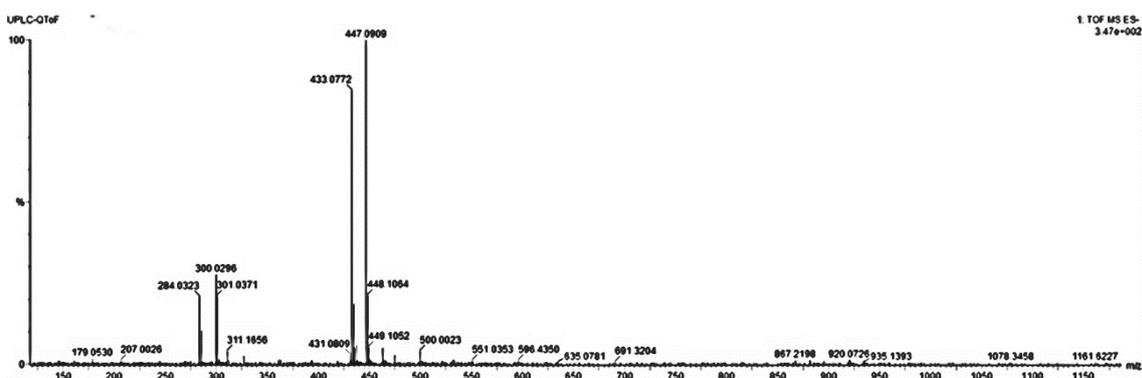
Fonte: Próprio autor.

## Cinnamoil glicosídeo



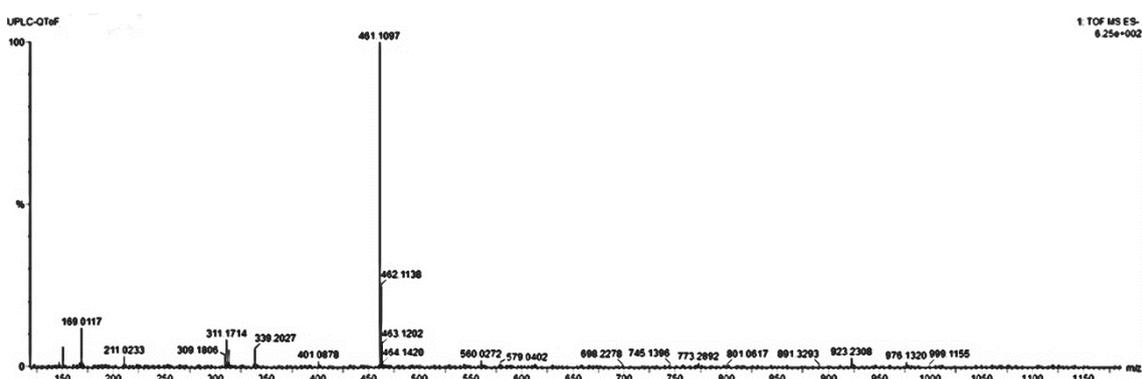
Fonte: Próprio autor.

## Quercetina- O- ramnosídeo e



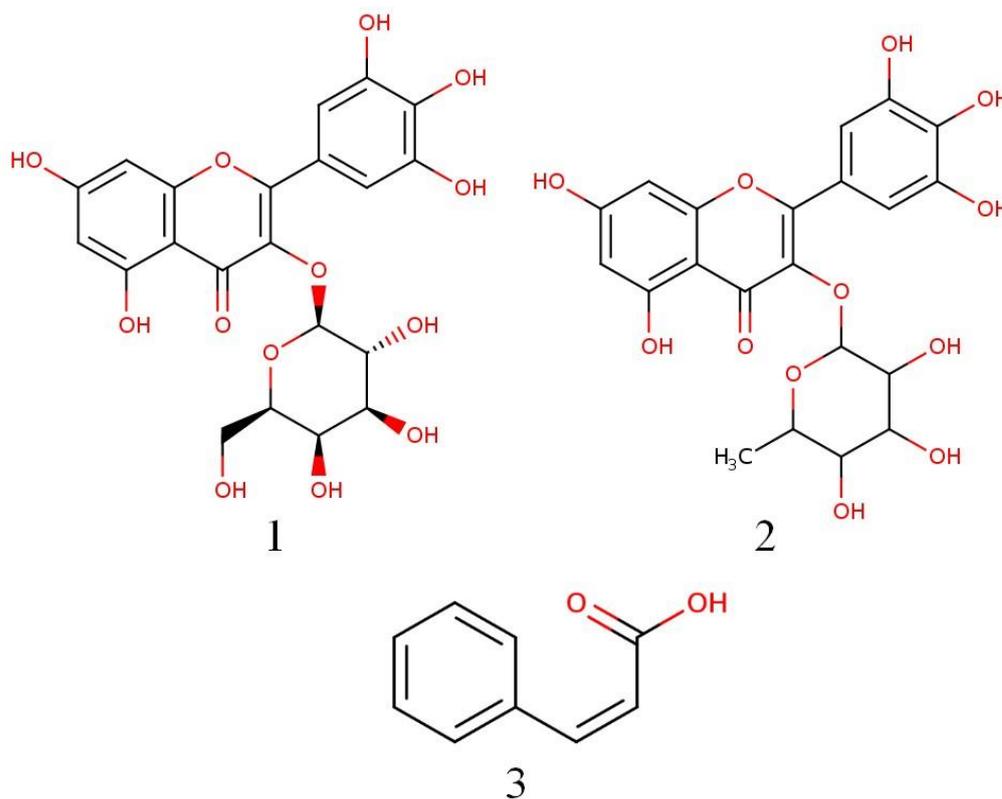
Fonte: Próprio autor.

## Kaempferol-O-hexosídeo

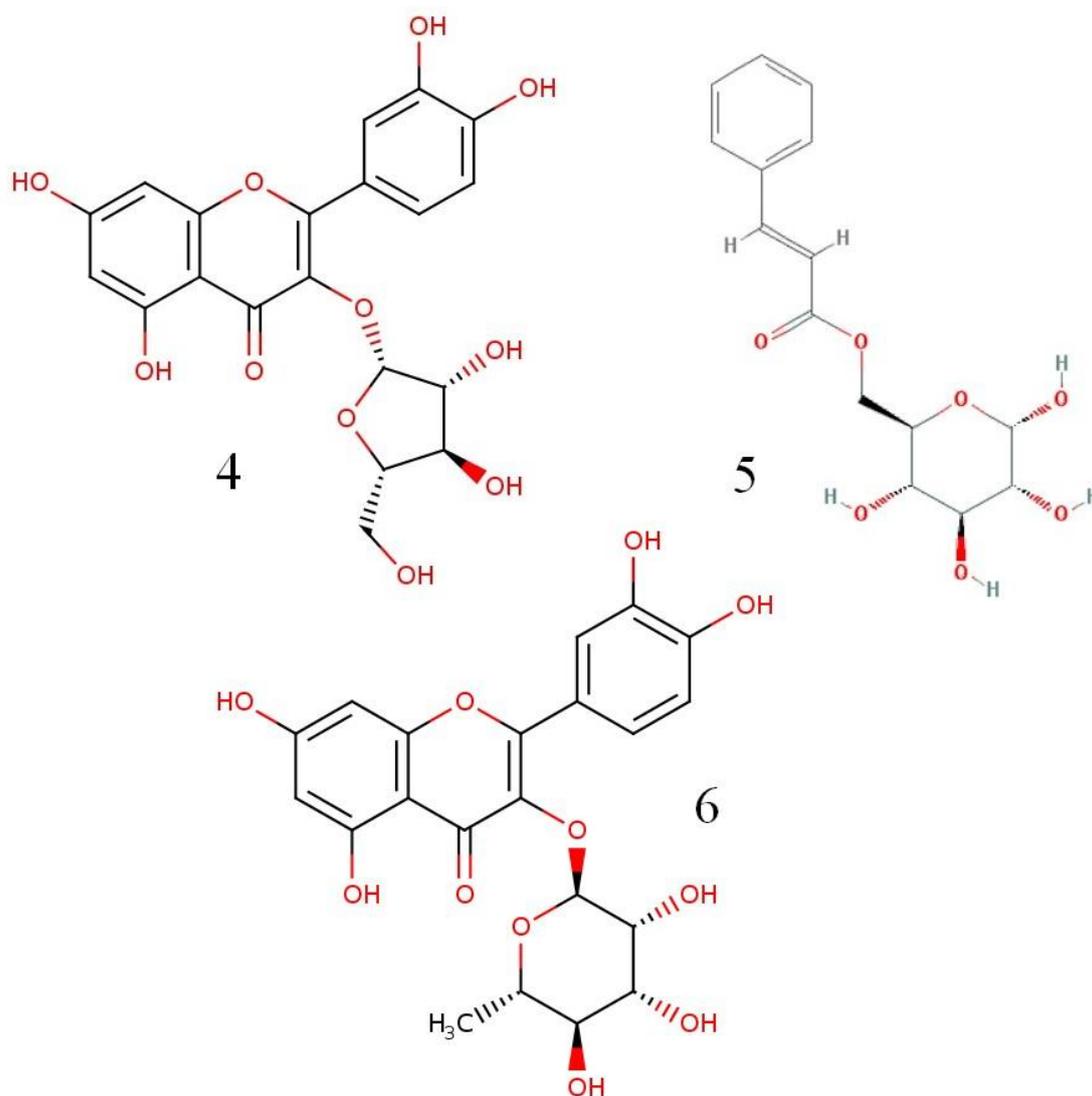


Fonte: Próprio autor.

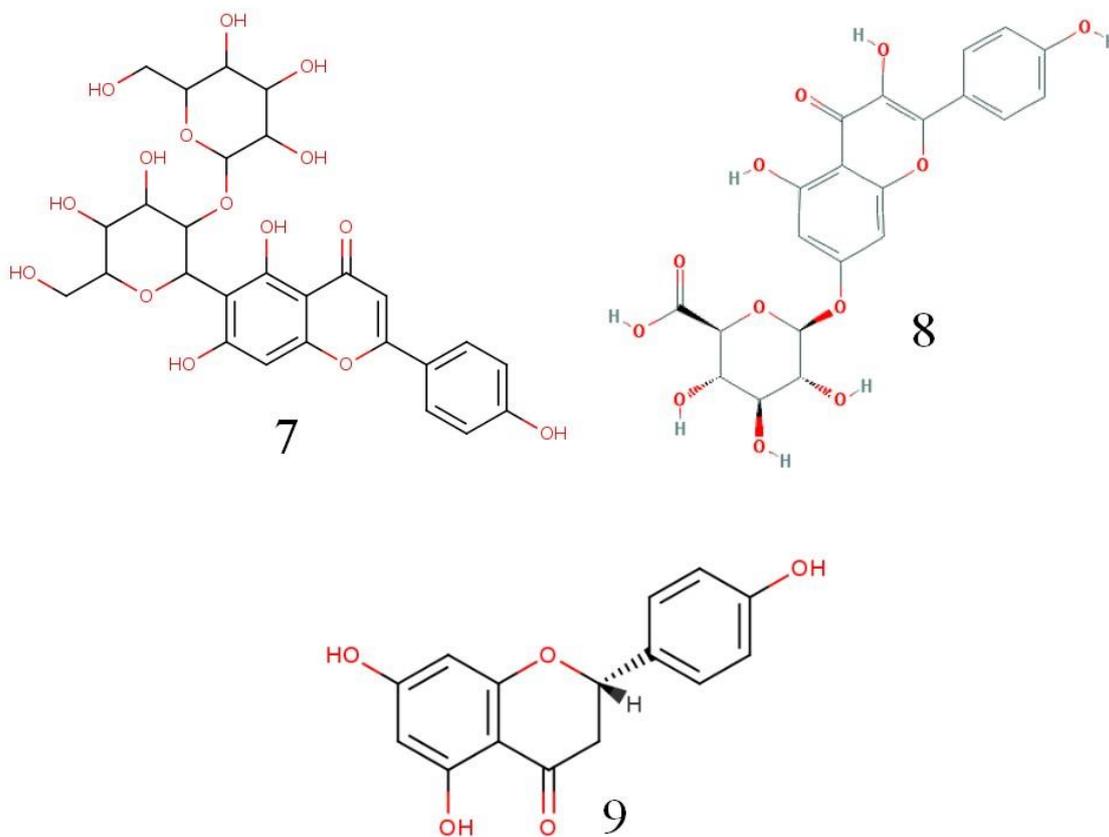
**Fig.20:** Estrutura dos compostos Myricetina-O-hexosideo(1), Myricetina-O-ramnosideo(2) e Ácido cinâmico (3).



**Fig.21:** Estrutura dos compostos Quercetina-O-hexosídeo(4), Cinnamoil glicosídeo(5) e Quercetina-O-ramnosídeo(6).



**Fig.22:** Estrutura dos compostos Kaempferol-O-hexosídeo(8), Isovitexin-O-glicosídeo(7) e Naringenina(9).



## 6. CONCLUSÕES:

Através da análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear das amostras CajuB e CajuS pode-se caracterizar oito compostos, dentre eles açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e compostos fenólicos.

O estudo de desreplicação permitiu o desenvolvimento de um método cromatográfico apropriado para o fracionamento dos constituintes químicos da espécie *Anacardium occidentale*, já que mostrou ser reprodutível e forneceu perfis cromatográficos com precisão para a realização das análises cromatográficas.

As estruturas caracterizadas foram definidas como Myricetina-O-hexosídeo(1), Myricetina-O-ramnosídeo(2), Ácido cinâmico (3), Quercetina-O-hexosídeo(4), Cinnamoil glicosídeo(5) e Quercetina-O-ramnosídeo(6), Kaempferol-O-hexosídeo(8), Isovitexin-O-glicosídeo(7) e Naringenina(9).

## 7. REFERÊNCIAS

- Acosta-Estrada, B.A.;Gutierrez-Uribe, J.A; Serna-Saldivar, S.O. **Bound phenolics in foods, a review.** Food Chemistry v. 152, p. 46–55, 2014.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. **Antioxidant activity of grains.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 50(21), p. 6182–6187, 2002.
- Alves, R. E. et al. **Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola.** Acta Horticulturae, Leuven, v. 773, p.299-305, 2008.
- Assunção, R. B., & Mercadante, A. Z. **Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects.** Food Chemistry, v. 81, p. 495–502, 2003.
- Balayssac, S.; Trefi, S.; Gilard, V.; Malet-Martino, M.; Martino, R.; Delsuc, M.A. **2D and 3D DOSY 1H NMR, a useful tool for analysis of complex mixtures: Application to herbal drugs or dietary supplements for erectile dysfunction.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 50, p. 602–612, 2009
- Bhanja, T., Kumari, A., & Banerjee, R. **Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi.** Bioresource Technology, v. 100(11), p. 2861–2866, 2009.
- Bicalho, B., Pereira, A. S., Aquino Neto, F. R., Pinto, A. C., & Rezende, C. M. **Application of high-temperature gas chromatographymass spectrometry to the investigation of glycosidically bound compounds related to cashew apple (*Anacardium occidentale* L. var *nanum*) volatiles.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 48, p. 1167–1174, 2000.
- Brito, E.S; Araujo,M.C.P; Lin,L.Z; Harnly.J. **Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS.** Food Chemistry, v. 105, p. 1112–1118, 2007.

Bordenave, N.; Hamaker, B. R. and Ferruzzi, M. G. **Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods** *Food Funct.*, 2013.

Cavalcante, A.A.M.; Rubensam, G.; Erdtmann, B.; Brendel, M.; Henriques, J.A.P. **Cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice lowers mutagenicity of aflatoxinB1 in *S. typhimurium* TA 102**, *Genet. Mol. Biol.* v. 28, p. 328–333, 2005.

Chen, S.D.; Lu, C.J.; Zhao, R.Z. **Qualitative and Quantitative Analysis of Rhizoma *Smilacis glabrae* by Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled with LTQ OrbitrapXL Hybrid Mass Spectrometry**. *Molecules*, 2014.

Conaba: Companhia nacional de abastecimento. **Castanha de caju**. Dezembro de 2016. Disponível em:  
<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_02\\_01\\_16\\_14\\_48\\_castanha\\_de\\_caju\\_dezembro\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_02_01_16_14_48_castanha_de_caju_dezembro_2016.pdf)>. Acesso em: 07 de junho de 2017.

Cunha, A.G; Brito, E.S; Moura, C.F.H; Ribeiro, P.R.V. **UPLC–qTOF-MS/MS-based phenolic profile and their biosynthetic enzyme activity used to discriminate between cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) maturation stages**. *Journal of Chromatography B*, v. 1051, p. 24-32, 2017.

Dean, John R.; **Extraction Techniques In Analytical Science**. Northumbria University. Newcastle: A John Wiley and Sons, Ltd. 2009.

De Oliveira, M.E.B; De Oliveira, G.S.F; Maia, G.A; Moreira, R.A; Monteiro, A.C.O **Aminoácidos Livres Majoritários no suco de caju: Variação ao longo da safra**. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 1, p. 133-137, 2002.

Edison, T.N.J.I, Atchudan, R; Sethuraman, M.G; Lee, Y.R. **Reductive-degradation of carcinogenic azo dyes using *Anacardium occidentale* testa derived silver nanoparticles**. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, v. 162, p. 604-610, 2016.

Embrapa (Empresa brasileira de pesquisa agropecuária). (1992). Campanha nacional de aumento de produtividade do cajueiro e produtos derivados do cajueiro. Fortaleza. 11p. (Embrapa – CNPCa. Boletim de Pesquisa, 04).

ESPIN, J. C. et al. **Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 48, n.5, p.1588-1592, 2000.

Filgueiras, H. A. C., Alves, R. E., Masca, J. L., & Menezes, J. B. **Cashew apple for fresh consumption: research on harvest and postharvest handling technology in Brazil.** Acta Horticulturae, v. 485, p. 155–160, 1999.

Ha T.J.; Kubo, I.; **Lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids, J. Agric. Food Chem.** v. 53, p. 4350–4354, 2005.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. **Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.** Journal of Nutritional Biochemistry, v. 13, p. 572–584, 2003.

Ibrahim M., Reidah A., Ali- Shtayeh M.S, Jamous R.M, Roman D.A., Carretero A.S. **HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L.(Sumac) fruits.** Food Chemistry. v.166 p. 179-191, 2015.

Jardim, I. C. S. F.; Andrade, J. DE A; Queiroz, S. C. N. **Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global- um enfoque às maçãs.** Química Nova, São Paulo, v.32, p.996-1012, n.4, 2009.

Jeong, S.W.; Kim, S.W.; Park, S.; Lee, J.H.; Kim, Y.H.; Kim, G.S.; Jin, J.S.; Kwak, Y.S.; Huh, M.R.; Lee, J.E.; Song, Y.; Shin, S.C.; **Variation in flavonoid levels in ‘CitrusBenikoji’ Hort ex. Tan. infected by Colletotrichum gloeosporioides.** Food Chem. v. 148, p. 284–288, 2014.

Kaewkrud W, Otsuka H, Ruchirawat S and Kanchanapoom T. **Leeaoside, a new megastigmane diglycoside from the leaves of *Leea thorelii* Gagnep.** Journal of Natural Medicines 2007; 61: 449–451.

Koolen, H. H. F., da Silva, F. M. A., Gozzo, F. C., de Souza, A. Q. L., & de Souza, A. D. L. **Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) by UPLC–ESI-MS/MS.** Food Research International, v. 51(2), p. 467–473, 2013.

Kubo, I., Nihei, K., & Tsujimoto, K. **Antibacterial action of anacardic acids against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, p. 7624–7628, 2003.

Leite, L. A. S. & Paula Pessoa, P. F. A. **Aspectos Socioeconômicos. In: L. M. Barros (Ed.), Caju. Produção: aspectos técnicos.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical (pp. 15–17). Brasília: Informação Tecnológica. (Frutas do Brasil, 30), 2002.

Liu, R. **Whole grain phytochemicals and health.** Journal of Cereal Science, v. 46(3), p. 207–219, 2007.

Liyana-Pathirana, C. M., & Shahidi, F. **Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54(4), p. 1256–1264, 2006.

Lubi, M. C., & Thachil, E. T. **Cashew nut shell liquid (CNSL) – a versatile monomer for polymer synthesis.** Designed Monomers and Polymers, v. 3, p. 123–153, 2000.

Luzyanin, K.; Abrantes, M. **Ressonância Magnética Nuclear - Ferramenta Versátil em Química Farmacêutica e Imaginologia Médica.** Química, Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, v. 117, n. 2, p. 25–30, 2010.

Maia, G.A.; Monteiro, J.C.S.; Guimarães, A.C.L. **Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa.** Ciência e Tecnologia de alimentos, Campinas, v. 21(1), p. 43-46, 2001.

Maldaner L, Jardim ICSF. **O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência.** Química Nova v. 32(1):p.214-222, 2009.

- Mestres, L.M., Souquet, J.M., Fulcrand, H. **Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.)**. Food Chemistry, v. 112, p. 851–857, 2009.
- Nardini, M., & Ghiselli, A. **Determination of free and bound phenolic acids in beer**. Food Chemistry, v. 84(1), p. 137–143, 2004.
- Nascimento, R.F.; Lima, A.C.A.; Barbosa, P.G.A.; Silva, V.P.A. **Cromatografia Gasosa- aspectos teóricos e práticos**. Ed. 1, 2015
- Nord, L.I.; Vaag, P.; Duus, J. Ø. **Quantification of organic and amino acids in beer by <sup>1</sup>H nmr spectroscopy**. Analytical Chemistry, v. 76, n. 16, p. 4790-4798, August 15, 2004.
- Paramashivappa, R., Phani Kumar, P., Vithayathil, P. J., & Srinivasa Rao, A. **Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid**. Journal of Agricultural Food Chemistry, v. 49, p. 2548–2551, 2001.
- Pavia, D.L.; Lampman, G.M.; Kriz, G.S.; Vyvyan, J.R.; **Introdução à espectroscopia**. ed. 4. Tradução: Pedro Barros. São Paulo: Cengage Learning, 2015.
- Queiroz, S. C. N.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F. **Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados e fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica**. Química Nova, São Paulo, v. 24, n.1, p. 68-76, 2001.
- Ray, S.D.; Bagchi, D. **Roles of polyphenols, flavonoids, and oligomeric proanthocyanidins in cancer chemoprevention, in: D. Bagchi, H.G. Preuss (Eds.)**. Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention, CRC Press, Florida, p. 311–348, 2005.
- Robards, K. **Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruits and vegetables**. Journal of Chromatography A. v. 1000, p. 657–691, 2003.

Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. **Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits.** Food Chemistry, v. 66, p. 401–436, 1999.

Sancho, A. I., Bartolome, B., Gomez-Cordoves, C., Williamson, G., & Faulds, C. B. **Release of ferulic acid from cereal residues by barley enzymatic extracts.** Journal of Cereal Science, v. 34(2), p. 173–179, 2001.

Santos, R.P, Santiago, A.A.X; Gadelha,C.A.A. **Production and characterization of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) peduncle bagasse ashes.** Journal of Food Engineering, v. 79, p. 1432–1437,2007.

Schweiggert,R.M, Vargas,E, Conrad,J. **Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow-, orange-,and red-peeled cashew apples (*Anacardium occidentale* L.).** Food Chemistry, v. 200, p. 274-282, 2016.

Shahidi F, Naczk M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications.** Lancaster: Technomic; 1995.

Sebrae Nacional: **O cultivo e o mercado da castanha de caju.** 2016. Disponível em: <<https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-castanha-de-caju,64ca9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD>>. Acesso em: 07 de junho de 2017.

Silva, L. M., Hill, L. E., Figueiredo, E., & Gomes, C. L. **Delivery of phytochemicals of tropical fruit by-products using poly (DL-lactide-coglycolide) (PLGA) nanoparticles: Synthesis, characterization, and antimicrobial activity.** Food Chemistry, v. 165(15), p. 362–370, 2014.

Silva, L.M.R; Figueiredo, E.A.T.; Ricardo, N.M.P.S.; Vieira, I.G.P.; Figueiredo, R.W.; Brasil, I.M.; Gomes, C.L. **Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil.** Food Chem. v. 143, p. 398–404, 2014.

Skoog, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R.;  
**Fundamentos de Química Analítica**. ed. 8. Tradução: Marco Grassi. São Paulo:  
Cengage Learning, 2000.

Sun, J.; Chu, Y.-F.; Wu, X., & Liu, R. H. **Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50(25), p. 7449–7454, 2002.

Trevisan, M.T.S.; Pfundstein, B.; Haubner, R.; Wurtele, G.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H.; Owen, R.W. **Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity**. *Food and Chemical toxicology*, v. 44, p. 188-197, 2006.

Universidade Federal do Ceará. Biblioteca Universitária. **Guia de normalização de trabalhos acadêmicos da Universidade Federal do Ceará**. Fortaleza, 2013.

Wishart, D.; Tzur, D.; Knox, C.; Eisner, R.; Guo, A.C.; Young, N.; Cheng, D.; Jewell, K.; Arndt, D.; Sawhney, S.; Chris Fung, C.; Nikolai, L.; Lewis, M.; Coutouly, M.A.; Forsythe, I.; Tang, P.; Shrivastava, S.; Jeroncic, K.; Stothard, P.; Amegbey, G. Block, D. Hau, D.D.; Wagner, J.; Miniaci, J.; Clements, M.; Gebremedhin, M.; Guo, N.; Zhang, Y.; Duggan, G.E.; Macinnis, G.D; Weljie, A.M.; Dowlatabadi, R.; Bamforth, F.; Clive, D.; Greiner, R.; Li, L.; Marrie, T.; Sykes, B.D.; Vogel, H.J.; Querengesser, L. **HMDB: the Human Metabolome Database**. *Nucleic Acids Research*, v. 35, Database issue D521–D526, 2007.

Wong, D. W. S. **Feruloyl esterase: A key enzyme in biomass degradation**. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 133(2), p. 87–112, 2006.

Yang J, Wen XD, Jia BX, Mao Q, Wang Q, Lai MX. **Quality evaluation of *Potentilla discolor* by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry**. *Phytochem Anal* 2011;22:547-54.

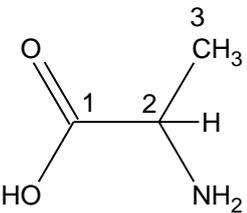
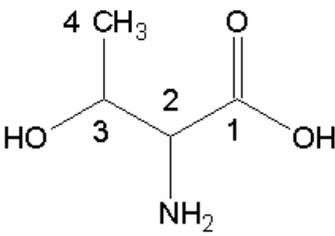
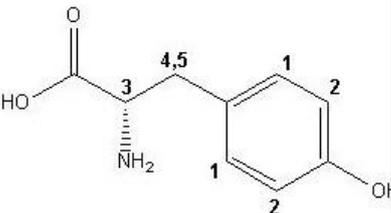
Ye, Y.; Yang, R.; Lou, Y.; Chen, J.; Yan, X.; Tang, H. **Effects of Food Processing on the Nutrient Composition of *Pyropia yezoensis* Products Revealed by NMR-based**

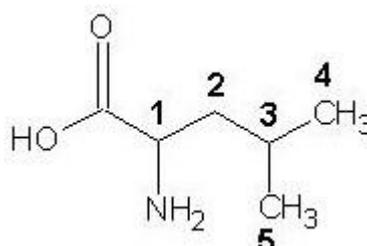
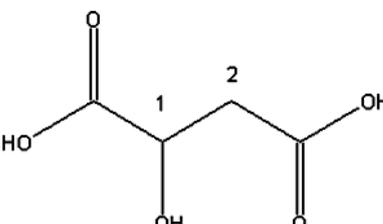
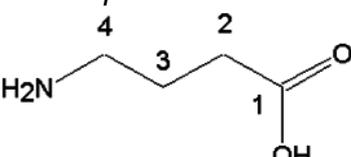
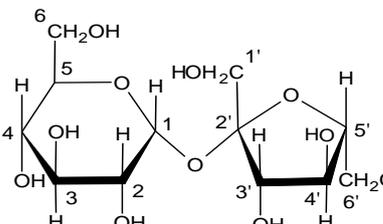
**Metabolomic Analysis.** Journal of Food and Nutrition Research, v. 2, n. 10, p. 749-756, 2014.

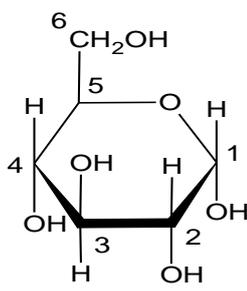
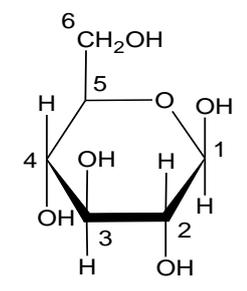
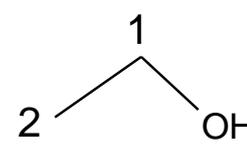
Zhou C, Luo JG, Kong LY. **Quality evaluation of *Desmodium styracifolium* using high-performance liquid chromatography with photodiode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry.** Phytochem Anal 2011, doi:10.1002/pca.1349.

## ANEXO:

Tabela 1: Principais compostos identificados de acordo com a literatura

<i>Estruturas</i>	Nº C	$\delta$ <sup>1</sup> H	( $\delta$ <sup>13</sup> C)	Ref. WISHART <sup>1</sup> H	Ref. WISHART <sup>13</sup> C
<b>Aminoácidos</b>					
<i>Alanina</i>					
	2	3,7 (o)	54,0	3,9 (q, 7,3)	53,4
	3	1,48 (d 7,2)	19,1	1,52 (d 7,3)	19,1
	1	-----	178,6		178,5
<i>Treonina</i>					
	2	3,88 (o)	o	3,81 (d 4,2)	63,4
	3	4,03 (o)	72,0	4,35 (m)	69,3
	4	1,33 (d 6,6)	23	1,35 (d 6,5)	22,3
<i>Tirosina</i>					
	1	7,19(d)	132	7,19(m)	133,5
	2	6,88(d)	115	6,89 (m)	118,9
	3	o	o	3,93 (dd)	58,98
	4	3,15 (o)	40	3,17(dd)	38,27
	5	3,05 (d 6,6)	40	3,07(dd)	38,27

<b>Leucina</b>					
	1	o	o	----	178,2
	2	3,70 (o)	o	3,74(m)	56,21
	3	1,68(m)	43	1,70 (m)	42,59
	4	1,68(m)	25	1,70 (m)	26,78
	5	1,02(d)	25	0,959 (t)	24,79
	6	1,04 (d)	23	0,944(t)	23,57
<b>Ácidos Orgânicos</b>					
<b>Ácido Málico</b>					
	3	4,35 (m)	72,1	4,60 (dd)	70,9
	2b	2,74(d)	31,0	2,90 (dd)	31,0
	2a	2,60 (dd)	31,0	2,85 (dd)	31,0
<b>Ácido <math>\gamma</math>-aminobutírico</b>					
	4	3,02 (t)	43,2	3.00 (t 7,2)	42,6
	3	1,91 (qui 7,2)	27,1	1,90 (qui 7,2)	26,8
	2	2,31 (t)	37,6	2,28 (t 7,2)	37,8
<b>Açúcares</b>					
	1	5,49 (d 3,7)	95,0	5,40 (d 3,8)	95,5
	2	3,56 (o)	74,1	3,89 a 3,57 (m)	73,3
	3	3,76 (o)	75,5	n	75,2
	4	3,48 (o)	72,3	n	71,4
	5	3,85 (o)	75,5	n	76,1
	6	3,82 (o)	63,1	n	62,7
	1'	3,82 (o)	65,2	n	65,0
	2'	3,89 (o)	84,3	n	82,3
	3'	4,05 (m)	77,0	4,03 (t 8,4)	76,2
	4'	4,22 (m)	79,3	4,1 (d 9,0)	78,1
	5'	3,68 (m)	64,5	N	63,0

<p><i><b><math>\alpha</math>-glucose</b></i></p> 	1	5,22 ( <i>d</i> )	95,0	5,17 ( <i>d</i> 3,8)	95,8
	2	3,47 ( <i>m</i> )	72,3	3,89 a 3,36 ( <i>o</i> )	72,2
	3	3,77 ( <i>m</i> )	75,6	n	76,0
	4	3,56 ( <i>m</i> )	74,0	n	72,8
	5	3,72 ( <i>m</i> )	63,9	n	64,2
	6	3,85 ( <i>m</i> )	75,5	n	74,5
<p><i><b><math>\beta</math>-glucose</b></i></p> 	1	4,66 ( <i>d</i> )	98,6	4,55 ( <i>d</i> 7,8)	99,3
	2	3,26 ( <i>m</i> )	77,5	3,25 ( <i>t</i> 8,4)	77,6
	3	3,75 ( <i>m</i> )	63,6	n	56,1
	4	3,48 ( <i>m</i> )	78,8	n	79,0
	5	3,41 ( <i>m</i> )	72,2	n	72,8
	6	3,90 ( <i>m</i> )	63,7	n	63,1
<i><b>Álcool</b></i>					
<p><i><b>Etanol</b></i></p> 	1	o	o	3,64	60,31
	2	0,965	24	1,17	19,59

s – simpleto;  
d – dupleteo;

t – tripleto;  
q – quadrupleteo;

quin – quinteto;  
m - multipleteo

n – não informado;  
o – sinal sobreposto;