



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICO-QUÍMICA E ANALÍTICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO**

RENATA FERREIRA COSTA

**AVALIAR A REPRODUTIBILIDADE DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA O
ISOLAMENTO DE ÁCIDO ANACÁRDICO PRESENTE NO LÍQUIDO DA
CASTANHA DE CAJU (LCC)**

**FORTALEZA
2019**

RENATA FERREIRA COSTA

AVALIAR A REPRODUTIBILIDADE DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA O
ISOLAMENTO DE ÁCIDO ANACÁRDICO PRESENTE NO LÍQUIDO DA CASTANHA
DE CAJU (LCC)

Monografia apresentada ao Curso de Química
Bacharelado da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para obtenção do
título de Bacharel em Química com habilitação
em Química Industrial.

Orientadora Pedagógica: Prof.^a Dr.^a. Nágila
Maria Pontes Silva Ricardo

Orientador Profissional: Prof. Dr. Edy Sousa
de Brito.

FORTALEZA

2019

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)

- C875a Costa, Renata Ferreira.
Avaliar a reprodutibilidade de método cromatográfico para o isolamento de ácido anacárdico presente no líquido de caju (LCC) / Renata Ferreira Costa. – 2019.
36 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.
Coorientação: Prof. Dr. Edy Sousa de Brito.
1. Ácido Anacárdico. 2. Líquido da Castanha de Caju . 3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência . I.
Título.

CDD 540

RENATA FERREIRA COSTA

AVALIARA REPRODUTIBILIDADE DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA O
ISOLAMENTO DE ÁCIDO ANACÁRDICO PRESENTE NO LÍQUIDO DA CASTANHA
DE CAJU (LCC)

Monografia apresentada ao Curso de Química
Bacharelado da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para obtenção do
título de Bacharel em Química com habilitação
em Química Industrial.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo (Orientadora Pedagógica)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro (Examinador)
Embrapa Agroindústria Tropical

Me. Stefane Nunes Costa (Examinadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais,

Edson Ferreira (*in memoriam*) e Socorro Costa,
por todo amor, exemplo e dedicação.

As minhas irmãs, Roberta e Raquel, por
existirem.

Ao meu primo (irmão), Detlev, pela amizade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida, por toda graça e benção, em quem confio e dedico toda honra e toda glória.

À minha família, em especial a minha mãe, Socorro, as minhas, irmãs Roberta e Raquel, ao meu primo, Detlev, à minha avó, Maria (mãezinha), as minhas primas, Stefane e Janille, pelo apoio, confiança e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu orientador profissional, Dr. Edy Sousa de Brito, Embrapa Agroindústria Tropical, pela paciência e ensinamentos.

À minha orientadora pedagógica, professora Dr^a. Nágila M. P. S. Ricardo, Universidade Federal do Ceará, pelo incentivo e orientação nesse trabalho.

Ao Dr. Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro, Embrapa Agroindústria Tropical, e Me. Stefane Nunes Costa, Universidade Federal do Ceará, por aceitarem o convite para participar desta banca examinadora.

À Embrapa Agroindústria Tropical por ter disponibilizado espaço e infraestrutura para o desenvolvimento desta pesquisa.

A toda equipe do Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN): Lorena Mara, Glady, Juliana Sales, Ana Sheila, Yandra e Cristine Soares, pela acolhida, disponibilidade e conhecimentos compartilhados, em especial ao Oiran Filho pelo apoio, e orientação durante as análises.

Às minhas amigas da graduação, Alice Barrozo, Catarina Ferreira, Natalia Gomes, Raissa Costa, Thiciane Almeida, por estarem sempre ao meu lado durante essa jornada, em especial à Manuela Santos, pelo apoio e por sempre me ajudar durante esse período tão importante da minha formação acadêmica.

À minha amiga, Aurineide uma irmã que a vida me deu, por todos os momentos de descontração e amizade.

Por fim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a elaboração deste trabalho, minha eterna gratidão.

“Se fiz descobertas valiosas, foi mais por ter paciência do que qualquer outro talento.” —

Isaac Newton.

RESUMO

O caju é um fruto pertencente à família *Anacardiácea*, é composto pelo pedúnculo, parte da polpa do fruto (pseudofruto) e a castanha que é o fruto verdadeiro. A casca da castanha de caju é matéria-prima para obtenção do líquido da casca da castanha (LCC), uma substância viscosa de coloração marrom escuro, com importantes aplicações na indústria química e farmacêutica. O LCC é rico em compostos fenólicos de cadeia longa e insaturada, tais como, cardol, cardanol, metil-cardol e os ácidos anacárdicos. Os ácidos anacárdicos são compostos fenólicos, apresentam caráter lipídico resultado de sua cadeia lateral alifática. É considerado um fitoquímico de interesse devido a sua ampla atividade biológica, que compreendem atividades microbidas, inseticidas e moluscicidas. Estudos recentes mostram resultados positivos da utilização dos ácidos anacárdicos (AcAn) em tratamentos e prevenção de doenças. Por isso, fazem-se necessários estudos para desenvolver métodos capazes de isolar esses compostos no LCC. O presente trabalho tem como objetivos avaliar a reprodutibilidade de método cromatográfico para isolar, identificar e avaliar a produtividade dos AcAn presentes no LCC. Amostras de LCC natural foram solubilizadas em metanol e injetadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE-UV/VIS) monitorado a um comprimento de onda de 280 nm, equipado com uma coluna C₁₈ em escala preparativa, utilizando como fase móvel metanol, H₂O e ácido acético, em modo isocrático. A produtividade foi de 0,6791, 0,4416 e 1,325 g.h⁻¹por g de adsorvente para os ácidos anacárdicos (15:1), (15:2) e (15:3), respectivamente. O método cromatográfico utilizado foi adequado para isolamento dos ácidos anacárdicos presentes no LCC. O isolamento dos padrões analíticos foi obtido com alta produtividade e baixo consumo de solvente.

Palavras-chave: Líquido da castanha de caju (LCC), Ácido anacárdico, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

ABSTRACT

The cashew is a fruit belonging to the family *Anacardiácea*, consists of the peduncle part of the pulp of the fruit (pseudofruit) and the chestnut which is the true fruit. Cashew nut shell is a raw material for obtaining chestnut husk liquid (CNSL), a dark brown viscous substance with important applications in the chemical and pharmaceutical industry. CNSL is rich in long chain and unsaturated phenolic compounds, such as cardol, cardanol, methyl-cardol and anacardic acids. Anacardic acids are phenolic compounds, presenting lipid character resulting from their aliphatic side chain. It is considered a phytochemical of interest due to its wide biological activity, which include microbicidal activities, insecticides and molluscicides. Recent studies show positive results of the use of anacardic acids (AnAc) in treatments and prevention of diseases. Therefore, studies are needed to develop methods capable of isolating these compounds in the CNSL. The present work aims to evaluate the reproducibility of chromatographic method to isolate, identify and evaluate the productivity of AnAc present in the CNSL. Samples of natural CNSL were solubilized in methanol and injected into a High Performance Liquid Chromatography (HPLC-UV / VIS) monitored at a wavelength of 280 nm, equipped with a preparative scale C₁₈ column using as the mobile phase methanol, H₂O and acetic acid in isocratic mode. The productivity was 0.6791, 0.4416 and 1.325 g.h⁻¹ by each g of adsorbent for the anacardic acids (15:1), (15:2) and (15:3), respectively. The chromatographic method used was adequate for the isolation of the anacardic acids present in the CNSL. The isolation of the analytical standards was obtained with high productivity and low solvent consumption.

Keywords: Cashew Nut Shell Liquid (CNSL), Anacardic Acid, High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação estrutural da molécula de ácido salicílico e ácido anacárdico com suas variações na cadeia carbônica.....	14
Figura 2	– Cajueiro Anão-Precoce Clone BRS 189.....	16
Figura 3	– Representação estrutural dos compostos fenólicos presentes no LCC	18
Figura 4	– Líquido da casca de caju (LCC técnico).....	19
Figura 5	– Representação estrutural do ácido anacárdico cadeia de 15 carbonos: trieno, dieno e monoeno.....	19
Figura 6	– Sistema CLAE-UV/VIS escala preparativa	25
Figura 7	– Perfil cromatográfico do ácido anacárdico monoeno (15:1) presente no LCC via UPLC-QTOF-MS ^E	28
Figura 8	– Perfil cromatográfico do ácido anacárdico dieno (15:2) presente no LCC via UPLC-QTOF-MS ^E	28
Figura 9	– Perfil cromatográfico do ácido anacárdico trieno (15:3) presente no LCC via UPLC-QTOF-MS ^E	29
Figura 10	– Perfil cromatográfico (HPLC UV/VIS preparativo) de LCC (100 mg. mL ⁻¹): (I) cardol, (II) cardanol, (III) AcAn trieno, (IV) AcAn dieno e (V) AcAn monoeno.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química do líquido da castanha de caju (LCC).....	18
Tabela 2 – Identificação dos diferentes ácidos anacárdicos trieno (15:3), dieno (15:2), monoeno (15:1) e (17:3), presentes no LCC, via UPLC-QTOF-MS ^E	27
Tabela 3 – Parâmetros das frações coletadas em HPLC-UV/VIS em escala preparativa.....	30
Tabela 4 – Valores para consumo de solvente orgânico e produtividade, para sistema HPLC em escala preparativa para os AcAn's (15: 1), (15: 2) e (15: 3).....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcAn	Ácido Anacárdico
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNSL	Cashew Nut Shell Liquid
FAO	Food and Agriculture Organization
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LCC	Líquido da Castanha deCaju
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	Caju (<i>Anacardium occidentale L</i>)	16
3.2	Líquido da castanha de caju (LCC)	17
3.3	Ácido Anacárdico	19
3.4	Extrações do LCC	20
3.5	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Material	23
3.1.1	<i>Líquido da castanha de caju</i>	23
3.1.2	<i>Equipamento Cromatográfico - HPLC Preparativo</i>	23
3.2	Métodos	23
3.2.1	<i>Obtenção do LCC</i>	23
3.2.2	<i>Método Cromatográfico em HPLC-UV/VIS Preparativo</i>	23
3.2.3	<i>Produtividade e consumo de solvente</i>	25
3.2.4	<i>Confirmação estrutural dos ácidos anacárdicos via UPLC-QTOF-MSE</i>	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1	Identificação dos Compostos	27
5.2	Isolamento dos Ácidos Anacárdicos	29
5.3	Produtividade e consumo de solvente	31
6	CONCLUSÃO	32
	REFERENCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale*) é uma espécie nativa do Brasil, encontrada em regiões tropicais e subtropicais, típica da região nordeste. Os principais produtos do cajueiro são o seu pseudofruto o caju, destinado à produção de sucos e consumo *in natura* e o seu verdadeiro fruto a castanha, da qual se obtém a amêndoa, produto de maior importância comercial para os produtores e mercado mundial (OIRAN FILHO, 2017). Em 2017, a produção de castanha de caju no mundo foi de aproximadamente 3,9 milhões de toneladas, enquanto isso o Brasil produziu aproximadamente 133,5 toneladas, ocupando assim o 9º lugar no Ranking mundial (FAO, 2017).

O fruto do cajueiro, a castanha de caju, é um aquênio que apresenta casca coriácea lisa, mesocarpo alveolado, repleto de um líquido escuro, viscoso, cáustico e inflamável, conhecido por líquido da casca da castanha do caju (LCC) ou *cashew nut shell liquid* (CNSL), como é conhecido internacionalmente, representando aproximadamente 25% do peso da castanha e é considerado um subproduto de agronegócio do caju (MAZZETO et al., 2009).

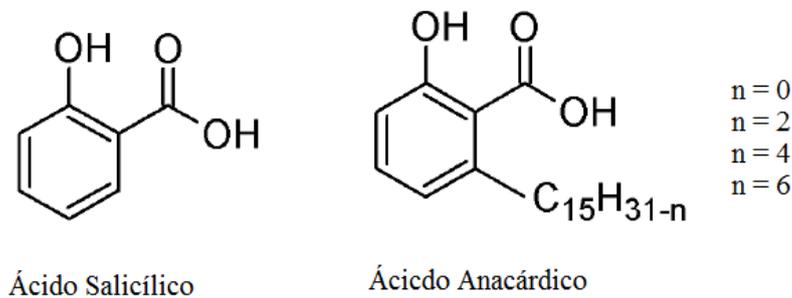
O LCC pode ser classificado como Técnico ou Natural. O LCC- Técnico é proveniente do processamento em altas temperaturas das cascas da castanha de caju caracterizado pela conversão dos ácidos anacárdicos em cardol e cardanol por meio de uma descarboxilação (PARAMASHIVAPPA *et al.*, 2001). Já o LCC- Natural provem de cascas que não foram submetidas a temperaturas elevadas, conservando assim as estruturas químicas dos compostos presentes nele (RODRIGUES *et al.*, 2011), evitando a conversão dos ácidos anacárdico por meio da descarboxilação, com isso não apresentando material polimérico em sua composição (OIRAN FILHO, 2017).

Existe um interesse da indústria química em agregar valor comercial ao LCC, ele é utilizado na produção de polímeros para a fabricação de resinas, isolantes, antioxidantes, adesivos, tintas, esmaltes especiais, vernizes, lubrificantes, pigmentos, fungicidas e plastificantes, devido à presença dos compostos fenólicos insaturados de cadeia longa em sua composição química (SOUZA, 2017).

A principal característica do LCC é a presença de compostos fenólicos como os ácidos anacárdicos, derivados do ácido salicílico (Figura 1), seguidos pelos cardois, derivados do

resorcinol, e em menores teores de cardanois, derivados dos ácidos anacárdico (AGOSTINI-COSTA et al., 2003).

Figura 1: Representação estrutural da molécula de ácido salicílico e ácido anacárdico com suas variações na cadeia carbônica



Fonte: OIRAM FILHO, 2017.

O ácido anacárdico é um fitoquímico de interesse da indústria química e farmacêutica, por apresentarem algumas atividades biológicas comprovadas, como, atividade antioxidante, microbicidas e inseticidas, e outras ainda em estágio de pesquisa (SOUZA, 2017).

Para fazer o isolamento dos ácidos anacárdico foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), pois a mesma é capaz de reproduzir resultados eficientes e preciso, utilizando para isso a escala analítica e preparativa. A cromatografia líquida de alta eficiência é uma variação moderna derivada da cromatografia líquida clássica, esta técnica é utilizada como processo de separação de diferentes compostos presentes em uma mistura (SNYDER *et al.*, 2011).

Já foram reportados na literatura alguns métodos para isolamento de ácidos anacárdicos, uns mais antigos como o relatado por Nagabhushana; Ravindranath, (1995), que utilizaram um método com coluna cromatográfica usando sílica gel tratada com trietilamina para isolamento em média escala do ácido anacárdico do LCC. Entretanto, este processo não é adequado para grandes isolamentos. Outros mais recentes, como os abordados por Oiran Filho, (2017), que utilizou novas técnicas como HPLC em escala preparativa e colunas mais eficientes, com objetivo de diminuir o consumo de solvente, entre outros. No entanto, há a necessidade de avaliar a reprodutibilidade desse método, para obtenção de ácidos anacárdicos cada vez mais puros e com maior produtividade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a reprodutibilidade de método cromatográfico para o isolamento de ácido anacárdico presente no líquido da castanha de caju (LCC).

2.2 Objetivos Específicos

Identificar e avaliar a produtividade das frações de ácido anacárdico isoladas no LCC.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Caju (*Anacardium occidentale L*)

Caju é um fruto pertencente à família *Anacardiácea*, é composto pelo pedúnculo parte da polpa do fruto (pseudofruto) e a castanha que é o fruto verdadeiro (SERRANO; PESSOA, 2016). O cajueiro cujo nome científico é *Anacardium occidentale* é uma árvore comum nas cidades, em pequenos pomares, é também muito cultivada em quase todo o país. A castanha é um fruto seco muito apreciado no Brasil e no exterior (MAIA-SILVA *et al.*, 2012).

Figura 2: Cajueiro Anão-Precoce Clone BRS 189



Fonte: Norões, Claudio, 2014.

No Brasil, o caju não é comercializado somente *in natura* (fruto e pedúnculo), mas também por meio de diversos subprodutos que são obtidos do seu pedúnculo, como sucos, sorvetes, doces, licores, mel, geleias, doces em calda, pastas, cristalizados, pratos salgados, refrigerantes, vinhos e aguardentes. A amêndoa do caju é considerada um produto de grande valor comercial para exportação (ALVES; FILGUEIRAS, 2002; *apud* FARIAS, 2019).

O caju possui a castanha, um aquênio reniforme de cor marrom-acinzentada, composta pelo pericarpo e pela amêndoa (semente). O pericarpo é a casca da castanha, sendo constituído por três camadas: epicarpo, mesocarpo e endocarpo, no qual está presente um líquido viscoso de coloração marrom escuro, cáustico e inflamável, chamado de líquido da casca da castanha de caju (LCC) que é um óleo rico em compostos fenólicos. (GANDHI *et al.*, 2012; SERRANO E OLIVEIRA, 2013).

A amêndoa é a parte comestível e está localizada dentro da castanha, é rica em lipídios, proteínas, carboidratos, ferro, fósforo, zinco, magnésio, fibras que contribuem para

funcionamento do intestino e gorduras insaturadas responsáveis por reduzir o nível de colesterol no sangue (GOZZOLA *et al.*, 2006).

A partir da Segunda Guerra Mundial por volta de 1943 houve um aumento no interesse pelo fruto do cajueiro, a castanha, de onde é obtido o LCC (líquido da castanha de caju) utilizado na indústria química, entre outros. Com o fim da guerra, o interesse econômico passou a ser a amêndoa. O aumento desse agronegócio na região Nordeste ocorreu devido a crescente produção de castanha de caju na década de 50, o estado que mais produzia era o Ceará. Somente em 1991, com o incremento na produtividade com clones de cajueiros fez a produção atingir uma escala maior, até mesmo para exportação (SERRANO; PESSOA, 2016).

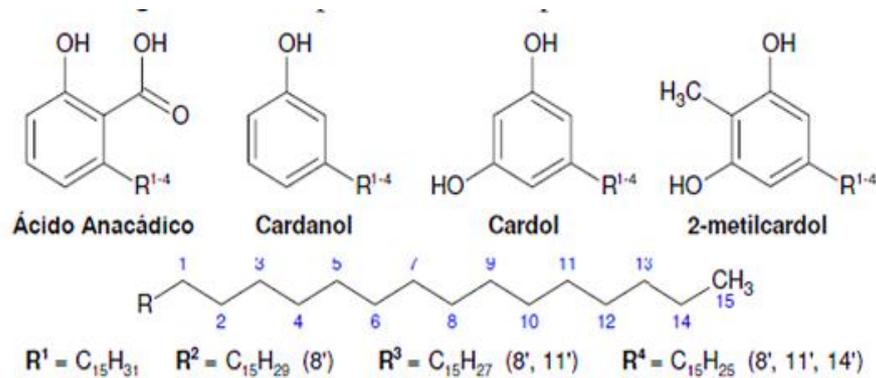
A cajucultura é uma atividade que possui grande destaque socioeconômico para o Nordeste brasileiro, principalmente para os Estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí, onde se encontram os maiores plantios do país (MACHADO *et al.*, 2011). A amêndoa, proveniente do caju, é muito apreciada, e junto com o líquido da casca da castanha (LCC) são os principais produtos de exportação. O pedúnculo de aparência exótica apresenta alto teor de vitamina C e grande valor nutricional, entretanto, o aproveitamento ainda é muito pequeno em relação à quantidade da matéria-prima potencialmente disponível (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2004).

3.2 Líquido da castanha de caju (LCC)

O LCC é considerado um subproduto do agronegócio do caju, representando aproximadamente 25% do peso da castanha e com baixo valor agregado (OSMARI *et al.*, 2015). No aspecto químico, é uma fonte natural de compostos fenólicos de cadeia longa e insaturada, sendo considerada uma das fontes mais ricas de lipídeos fenólicos não-isoprenoides de origem natural (NUNES, 2014).

Os primeiros estudos feitos com o LCC na década de 40 apontavam a presença de apenas dois constituintes na mistura, ácido anacárdico (90%) e cardol (10%). Em estudos posteriores foram descobertos que a mistura era mais complexa, a mesma era constituída por ácidos anacárdicos, cardanóis, 2-metilcardóis e cardóis, (Figura 3), (TYMAN *et al.*, 1986; WASSERMAN *et al.*, 1945 *apud* SOUZA, 2017).

Figura 3: Representação da estrutura dos compostos fenólicos presentes no LCC.



Fonte: adaptado de MAZZETTO *et al.*, 2009.

O LCC pode ser classificado como técnico ou natural baseado na sua composição. O LCC natural possui uma grande quantidade de ácido anacárdico e não apresenta material polimérico em sua composição, já no LCC técnico (Figura 4) há a presença de material polimérico (GEDAM; SAMPATHKUMARAN, 1986 *apud* SOUZA, 2017), apresentando também, um elevado percentual de cardanol, devido o tratamento térmico sofrido durante seu processo de extração, o qual favorece a descarboxilação do ácido anacárdico (MAZZETTO *et al.*, 2009).

Baseados nos dados obtidos por MAZZETTO *et al.*, (2009), foram elaborados os dados demonstrados na Tabela 1 abaixo, os principais componentes fenólicos e as concentrações presente no LCC natural e no técnico.

Tabela 1: Composição do líquido da casca da castanha de caju (LCC) natural e técnico

Compostos fenólicos	LCC natural (%)	LCC técnico (%)
Acido anacárdico	71,7-82,0	1,09-1,75
Cardanol	1,60-9,20	67,8-94,6
Cardol	13,80-20,1	3,80-18,86
2-metilcardol	1,65-3,90	1,20-4,10
Componentes minoritários	2,20	3,05-3,98
Material polimérico	-	0,34-21,6

Fonte: Adaptado de Mazzetto *et al.* (2009).

Figura 4. Líquido da casca da castanha de caju (LCC técnico).



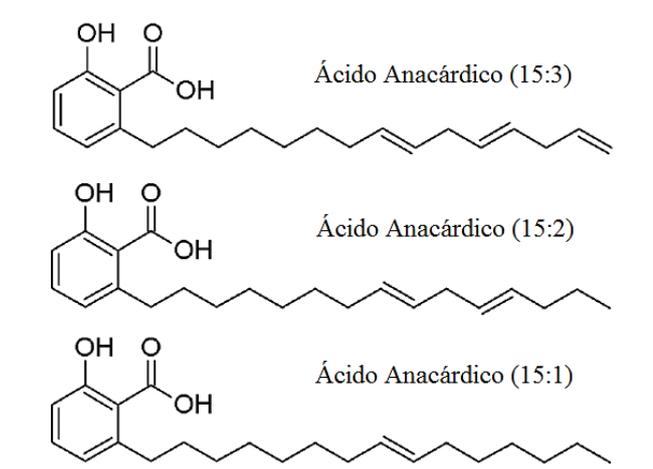
Fonte: CAVALCANTE, 2014.

3.3 Ácido Anacárdico

Os ácidos anacárdicos são compostos fenólicos derivados do ácido salicílico, possuem como nomenclatura ácido 2-hidroxi-6-pentadecil-benzoico (SEONG *et al.*, 2014), apresentam caráter lipídico resultado de sua cadeia lateral alifática. Eles constituem cerca de 90% do líquido presente no LCC, sendo que, nessas concentrações, apresentam propriedades cáusticas e irritantes (DIÓGENES *et al.*, 1996 *apud* AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2004).

Os ácidos anacárdicos são compostos apolares, apresentando em sua estrutura um anel fenólico ligado a uma longa cadeia lateral que varia de 2 a 17 no número de carbonos. Estão presentes em maior quantidade no líquido da castanha de caju e em outras partes do fruto, os compostos de cadeias longas contendo 15 carbonos, podendo ter uma, duas, três (mono, di e trieno) instauração, como demonstrado na Figura 5, ou nenhuma (saturado), além disso, um grupo metila pode ser encontrado no anel fenólico (NETO *et al.*, 2014).

Figura 5. Representação estrutural dos ácidos anacárdicos cadeia de 15 carbonos: trieno, dieno e monoeno.



Fonte: OIRAM FILHO *et al.*, 2017.

Uma característica estrutural importante dos ácidos anacárdicos é grau de insaturação da cadeia carbônica, essa diferença também reflete no grau de polaridade das moléculas (TREVISAN *et al.*, 2006). Essas variações das insaturações e do tamanho da cadeia lateral influenciam diretamente na atividade biológica dos ácidos anacárdicos mostrando assim, uma maior, menor ou nenhuma eficácia para determinada aplicação (KUBO *et al.*, 2005 apud MORAIS *et al.*, 2017).

O ácido anacárdico é um fitoquímico de interesse devido as suas amplas atividades biológicas, que compreendem atividades microbidas, inseticidas e moluscicidas (GELLERMAN *et.al.*, 1969 *apud* SOUZA, 2017).

Estudos recentes mostraram resultados positivos da utilização dos ácidos anacárdicos (AcAn) em tratamentos e prevenções de doenças, tais como: atividade anti-carcinogênica, (HUANG *et al.*, 2014), tratamento para doença de Alzheimer,(LEMES *et al.*, 2016), doença de Chagas (De Oliveira *et al.*, 2014), tratamento em infecções causadas por bactérias (HOLLANDS *et al.*, 2016) e atividade antioxidante (MASUOKA *et al.*, 2013).

3.4 Extrações do LCC

Devem-se tomar alguns cuidados antes do procedimento de obtenção do líquido da castanha de caju (LCC), a fim de evitar alterações na sua composição. Temperaturas acima de 100 °C e uma exposição prolongada dos ácidos anacárdicos à oxidação atmosférica são situações prejudiciais ao processo (IZZO e DAWSON, 1949; OIRAM FILHO, 2017).

A extração de LCC da casca inclui o método artesanal de torrefação, método mecânico (banho de óleo quente), método frio e extração por solvente. No método a frio o LCC pode ser obtido por extrusão em solventes, ou por prensagem (GANDHI, *et.al.*, 2013).

No método por imersão em banho em óleo quente, o próprio LCC é imerso a 185-190°C, como ocorre quase na totalidade da indústria brasileira, (MONTEIRO Jr., 1992 *apud* MATOS, *et al.*, 2008). No processo a quente, obtém-se cerca de 50% do líquido, produzindo um LCC diferente do extraído a frio, esse líquido é chamado de “LCC técnico”, pois durante o aquecimento o ácido anacárdico sofre descarboxilação e é convertido em cardanol. (MATOS, *et al.*, 2008).

No método de extração por solvente, as cascas das castanhas são imersas em solvente orgânico, integras ou maceradas. Podem ser utilizados vários tipos de solventes, tais como o

éter de petróleo, hexano, metanol, pentano, éter dietílico (IZZO e DAWSON, 1949; TOYOMIZU *et. al.*, 2003; CAVALCANTE, 2014), entre outros. Nesse processo, a extração acontece devido às interações ocorridas entre soluto e solvente em função da polaridade do composto a ser extraído, sendo esse um fator primordial para escolha do melhor solvente (AZMIR *et.al.*, 2013).

O método de extração por prensagem é um processo bastante utilizado atualmente para extração em pequena escala. Nela as sementes ou amêndoas que apresentam de 30 a 50% de óleo, podem ser submetidas à extração de óleo utilizando prensas contínuas, chamadas de "expeller", ou prensas hidráulicas (processo descontínuo). Antes da extração, é necessário realizar um tratamento térmico para inativação enzimática e desnaturar proteína para liberar o óleo (ANTONIASSI, 2014).

O processo de extração de LCC por prensagem possui algumas vantagens em relação à extração por solvente, pois elimina algumas etapas no processo de obtenção e, conseqüentemente, diminui o tempo de processamento (PIGHINELLI *et al.*, 2009).

3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) se desenvolveu muito nos últimos anos, recebeu esse nome porque a sua fase móvel é um solvente. Os componentes de um cromatógrafo líquido são: bomba, coluna cromatográfica, detector e o registrador. É um método utilizado para separação de espécies iônicas ou macromoléculas e compostos termolábeis (PEREZ, 2002).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é um dos métodos analíticos de separação mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos, sendo utilizada em várias áreas da ciência para separar e determinar espécies com grande variedade de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos (TONHI *et.al.*, 2002 *apud* MENDES, 2019).

A separação dos compostos por meio de cromatografia líquida ocorre pela interação de cada componente presente em uma amostra com uma fase estacionária. Essa interação pode ser de natureza física (processos de sorção) ou de natureza química (troca iônica, interações hidrofóbicas, outras) e está diretamente associada à estrutura molecular de cada composto e com a polaridade de cada molécula. (VITOLLO, 2005 *apud* OIRAM FILHO, 2017).

Dependendo da finalidade da técnica, a CLAE pode ser analítica ou preparativa. A cromatografia líquida preparativa é utilizada para a purificação e/ou fracionamento de

substâncias, já a analítica tem como objetivo a quantificação e/ou identificação de compostos. A escala analítica também é considerada uma etapa preliminar para melhor adequação dos parâmetros cromatográficos, tendo em vista aprimorar a resolução e o desenvolvimento de métodos mais adequados, para posteriormente, serem utilizados em escalas maiores de isolamento. (LANÇAS, 2009).

A escala preparativa possui como principal característica a possibilidade do uso de vazões maiores do que aquelas utilizadas nas separações analíticas, sendo considerada uma técnica de alto desempenho na purificação de amostras, pois possibilita a separação de diferentes compostos em uma mistura. (JIN *et al.*, 2016). No entanto, a cromatografia preparativa possui uma melhor taxa de recuperação dos compostos quando comparada a cromatografia analítica (JANDERA *et al.*, 1997 *apud* OIRAN FILHO, 2017).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 *Líquido da castanha de caju*

O LCC natural foi obtido por meio da prensagem das cascas das castanhas, fornecidas pela mini fábrica de beneficiamento de castanha de caju do Campo Experimental Pacajus/CE da Embrapa Agroindústria Tropical.

4.1.2 *Equipamento Cromatográfico - HPLC Preparativo*

Na escala preparativa o sistema cromatográfico utilizado foi composto por um cromatógrafo Waters 2555 – Quaternary Gradiente Module acoplado a um detector UV visível Waters 2489 e com um coletor de fração Waters Fraction Collector III (Dublin, Leinster, Irlanda). O controle do equipamento e o processamento dos dados foram com o uso do software Empower Pro.

4.2 Métodos

4.2.1 *Obtenção do LCC*

O LCC utilizado para o isolamento dos ácidos anacárdicos foi obtido através do método de extração por prensagem, descrito por OIRAN FILHO, 2017 e gentilmente cedido pelo professor Edy Sousa de Brito (Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical).

4.2.2 *Método Cromatográfico em HPLC-UV/VIS Preparativo*

O método cromatográfico foi conduzido usando uma coluna cromatográfica de fase reversa Waters SunFire Prep C₁₈ OBD (100 x 19 mm x 5 µm). A fase móvel foi usada de maneira isocrática, utilizando como solventes, metanol, água e ácido acético, na proporção (90:10:1), tempo de corrida de 45 min, fluxo de eluição de 7 mL.min⁻¹, à temperatura de 25 °C, volume de injeção de 1 mL e concentração de 100 mg.mL⁻¹. Os cromatogramas foram monitorados a um comprimento de onda de 280 nm.

Diferentemente da utilizada na cromatografia analítica, a escolha do metanol como solvente orgânico na fase móvel foi baseada na interpolação de valores disponíveis no Nomograma de Snyder (SNYDER *et al.*, 2012), o qual apresenta proporções de equivalências entre os solventes de diferentes polaridades. Portanto, a mudança da fase móvel nas proporções adequadas não altera a ordem de eluição dos compostos. Fatores ambientais e econômicos foram os que mais influenciaram na escolha do metanol como solvente para escala preparativa.

O volume de injeção foi calculado de acordo com as equações (GUILLARME *et al.*, 2007; AUBIN e CLEARY, 2009) abaixo e otimizado em função do equipamento, no qual o volume de injeção foi descrito de acordo com a equação 1.

$$V_{inj2} = V_{inj1} \cdot \frac{dc_2^2}{dc_1^2} \cdot \frac{L_2}{L_1} \quad (1)$$

Onde, V_{inj2} é a carga de injeção da escala preparativa, V_{inj1} é a carga de injeção da escala analítica, dc_2 o diâmetro interno da coluna preparativa, dc_1 o diâmetro interno da coluna analítica, L_2 o comprimento da coluna preparativa e L_1 o comprimento da coluna analítica.

A vazão de eluição foi calculada de acordo com a equação 2 descrita abaixo e ajustada em função de fatores de viabilidade de execução e econômica.

$$Q_2 = Q_1 \cdot \frac{dc_2^2}{dc_1^2} \cdot \frac{dp_1}{dp_2} \quad (2)$$

Onde, Q_2 é a vazão de eluição do sistema preparativo, Q_1 é a vazão de eluição do sistema analítico, dc_2 é o diâmetro interno da coluna preparativa, dc_1 é o diâmetro interno da coluna analítica, dp_1 é o diâmetro da partícula no analítico e dp_2 é o diâmetro da partícula no preparativo. Para o isolamento dos ácidos anacárdicos foram executadas 7 corridas (n=7) e as frações do isolamento dos picos de cada ácido anacárdico foram coletadas com o auxílio de um coletor automático.

O sistema utilizado para a obtenção das frações dos ácidos anacárdicos nesse estudo está representado na Figura 6.

Figura 6: Sistema CLAE-UV/VIS escala preparativa.



Fonte: MENDES, 2019

Em seguida as frações coletadas foram rotaevaporadas para eliminação do solvente e obtenção apenas dos ácidos anacárdicos (15:1, 15:2 e 15:3), para isso foi utilizado um evaporador rotativo da marca BUCHI® modelo R-215, com temperatura do banho de 40°C, sob pressão reduzida e rotação de 100rpm.

4.2.3 Produtividade e consumo de solvente

Para os cálculos de produtividade e consumo de solvente foram utilizadas equações adaptadas a partir de trabalhos relatados na literatura (SILVA JR *et al.*, 2006; ARCANJO *et al.*, 2015). A produtividade do sistema preparativo, expressa em g.h⁻¹ por g de adsorvente, foi calculada levando em consideração parâmetros específicos para o sistema preparativo. A vazão volumétrica, o volume de adsorvente da coluna utilizada e a concentração dos produtos obtidos são mostradas na equação 3 abaixo:

$$P_{Pr.} = \frac{Q_{Pr.} \cdot C'_{AcAn}}{V_{(Pr.)}} \quad (3)$$

Onde, $P_{pr.}$ é a produtividade para o sistema preparativo, $Q_{pr.}$ é a vazão volumétrica (mL.min⁻¹) do sistema preparativo, C'_{AcAn} é a concentração de ácidos anacárdicos presentes em uma solução de LCC (100 mg.mL⁻¹) e $V_{(pr.)}$ é o volume de adsorvente da coluna preparativa.

Para o consumo de solvente foram realizados os cálculos para o sistema cromatográfico em escala preparativa, em função dos seguintes parâmetros, vazão volumétrica, tempo de corrida, percentual do solvente orgânico e massa dos produtos obtidos, expresso em mL.mg⁻¹, assim como mostra a equação 4:

$$CS_{Pr.} = \frac{t_{cor} \cdot Q_{pr} \%_{sol}}{m'_{(AcAn)}} \quad (4)$$

Onde, $CS_{Pr.}$ é o consumo de solvente em escala preparativa, expresso em mL.mg⁻¹ de ácidos anacárdicos, t_{cor} é o tempo da corrida cromatográfica, $Q_{pr.}$ é a vazão volumétrica (mL.min⁻¹) do sistema preparativo, $\%_{sol}$ é o percentual de solvente orgânico presente na fase móvel e m'_{AcAn} a massa de ácidos anacárdicos presente em 100 mg de LCC.

4.2.4 Confirmação estrutural dos ácidos anacárdicos via UPLC-QTOF-MSE

Para realizar a identificação com exatidão no sistema HPLC-DAD, dos três diferentes ácidos anacárdicos (15:3), (15:2) e (15:1) presentes no LCC, foram realizadas análises em um sistema Waters Acquity UPLC acoplado a um analisador de massas de alta resolução Time-of-Flight (TOF) equipado com uma interface electrospray (ESI). As separações foram realizadas em coluna C₁₈ (Waters Acquity UPLC C₁₈, 150 mm x 2,1 mm, 1,7 μm). O perfil dos metabólitos contidos no LCC foram obtidos inicialmente por um gradiente exploratório, sendo a fase móvel composta por: H₂O (A) e acetonitrila (B), cada uma destas contendo ácido fórmico (0,1% v/v). As amostras foram submetidas ao seguinte gradiente: 2 – 95 % do solvente (B) em 20 minutos a uma vazão de 0,4 mL.min⁻¹. A análise do LCC foi conduzida em modo de ionização negativo no intervalo de 100 – 1200 Da. As condições da fonte ESI foram definidas da seguinte forma: tensão capilar 2800 V, tensão do cone 40 V, temperatura da fonte 120°C, temperatura de dessolvatação 350°C, fluxo de gás do cone de 20 L.h⁻¹, o fluxo do gás de solvatação 600 L.h⁻¹, e MCP (micro canais tensão da placa) – detector a 1900 V.

A identificação estrutural dos metabólitos presentes no LCC foi feitas de acordo com as fórmulas moleculares e os valores de m/z obtidos a partir de espectros de alta resolução, observados nos picos cromatográficos de maior intensidade, por meio do software MassLynx (water Corporation). As propostas estruturais das moléculas de AcAn's foram realizadas com os dados de MS/MS, por meio do estabelecimento de padrões de fragmentação (YULIANA *et al.*, 2013; BOUSLIMANI *et al.*, 2014).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação dos Compostos

A confirmação da identificação dos diferentes AcAn's que foram isolados nas amostras de LCC analisadas, mostrados na Tabela 2, foi realizada por espectrometria de massas, através das massas moleculares e seus respectivos fragmentos. Foram confirmados os AcAn's trieno, dieno e monoeno, de acordo com suas massas e respectivos fragmentos de ionização comparando com os valores relatados por Oiran Filho *et al.*, (2017). Também foi identificado na amostra de LCC o AcAn (17:3) a partir dos valores de massa molecular e do seu íon fragmento (OIRAN FILHO, 2017).

O ácido anacárdico (15:3) foi identificado a partir de sua massa $[M-H]^-$ 341,2092 Da e pelo íon fragmento de m/z 297,2154 Da; o ácido anacárdico (15:2) foi identificado com $[M-H]^-$ 343,2256 Da e um íon fragmento de m/z 299,2360 Da; o ácido anacárdico (15:1) foi identificado por meio de uma massa $[M-H]^-$ 345,2410 Da, juntamente com um íon de fragmentação de m/z 301,2522 Da; já o ácido anacárdico (17:3) foi identificado pela sua massa $[M-H]^-$ 369,2431 Da e pelo seu fragmento de ionização m/z 325,2527 Da.

Os espectros de massa apresentam uma fragmentação de $[M-H-44]^-$ comum aos 4 compostos identificados. Essa massa é resultado da perda de uma molécula de CO_2 originado pela a clivagem do grupo carboxílico (JERZ *et al.*, 2012; ERŞAN *et al.*, 2016; OIRAN FILHO, 2017).

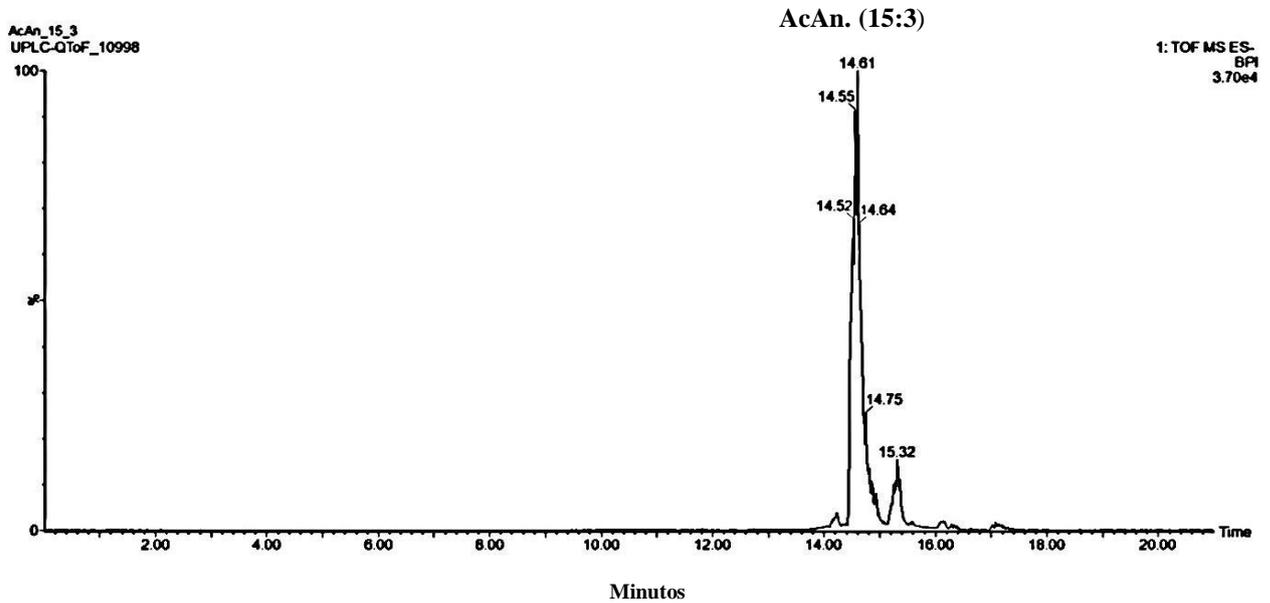
Tabela 2: Identificação dos diferentes ácidos anacárdicos trieno (15:3), dieno (15:2), monoeno (15:1) e (17:3), presentes no LCC, via UPLC-QTOF-MS^E.

Nº	t _R (min.)	Nome do Composto	$[M-H]^-$ Experimental	$[M-H]^-$ Teórica	Erro (ppm)	Fragmento (m/z)	Formula Molecular
1	14,6	AcAn (15:3)	341,2092	341,2117	-7,3	297,2154	C ₂₂ H ₃₀ O ₃
2	15,26	AcAn (15:2)	343,2256	343,2273	-5,0	299,2360	C ₂₂ H ₃₂ O ₃
3	15,96	AcAn (15:1)	345,2410	345,2430	-5,8	301,2534	C ₂₂ H ₃₄ O ₃
4	15,60	AcAn (17:3)	369,2431	369,2430	0,3	325.,2527	C ₂₄ H ₃₃ O ₃

Fonte: Elaborada pelo autor.

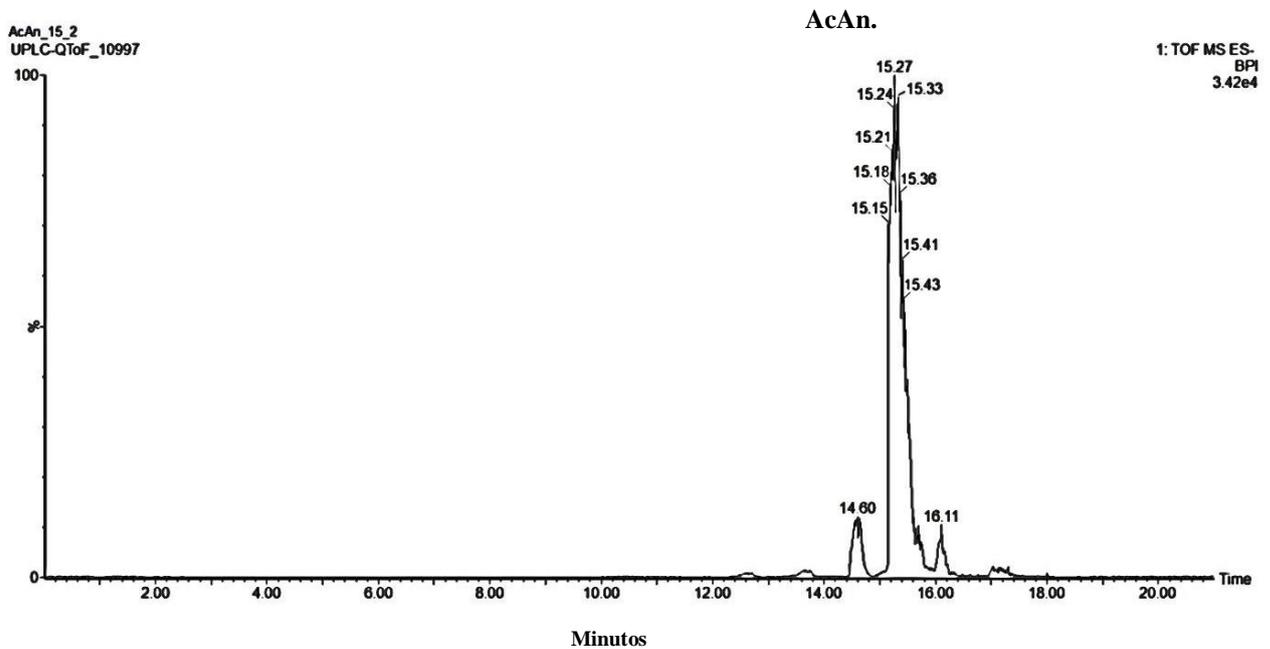
As Figuras 7, 8 e 9 mostram os perfis cromatográficos dos ácidos anacárdicos trieno, dieno e monoeno, respectivamente, isolados do LCC obtidos via UPLC-QTOF-MS^E.

Figura 7: Perfil cromatográfico do ácido anacárdico trieno (15:3) presente no LCC via UPLC-QTOF-MS^E.



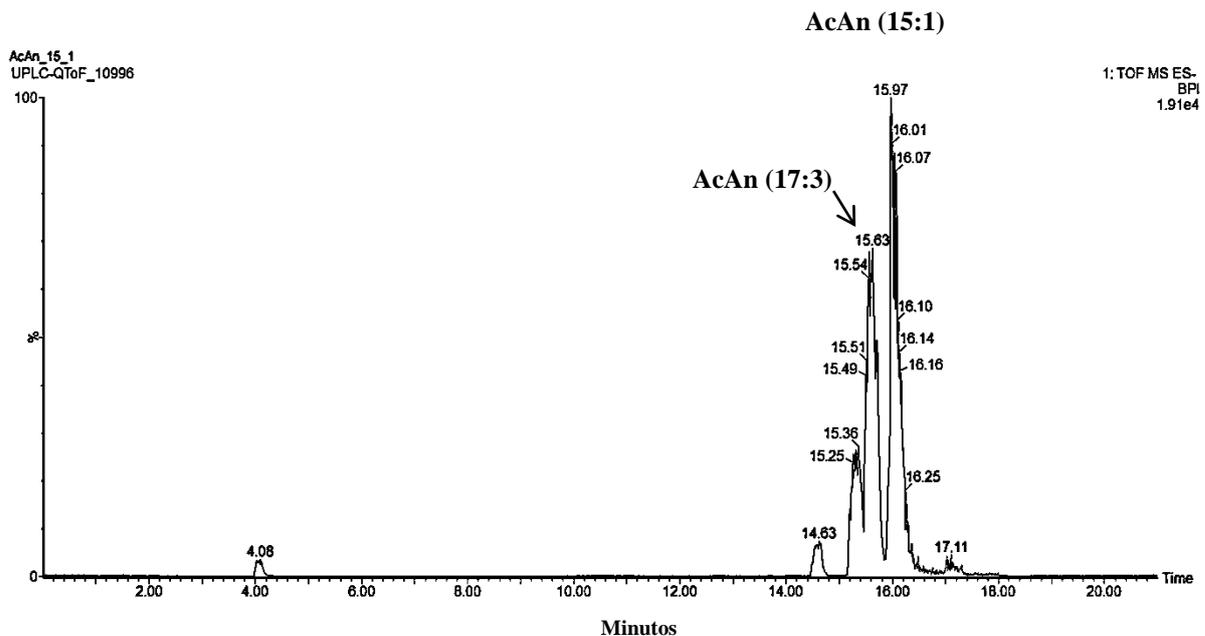
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 8: Perfil cromatográfico do ácido anacárdico dieno (15:2) presente no LCC via UPLC-QTOF-MS^E.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 9: Perfil cromatográfico do ácido anacárdico monoeno (15:1) presente no LCC via UPLC-QTOF-MS^E.



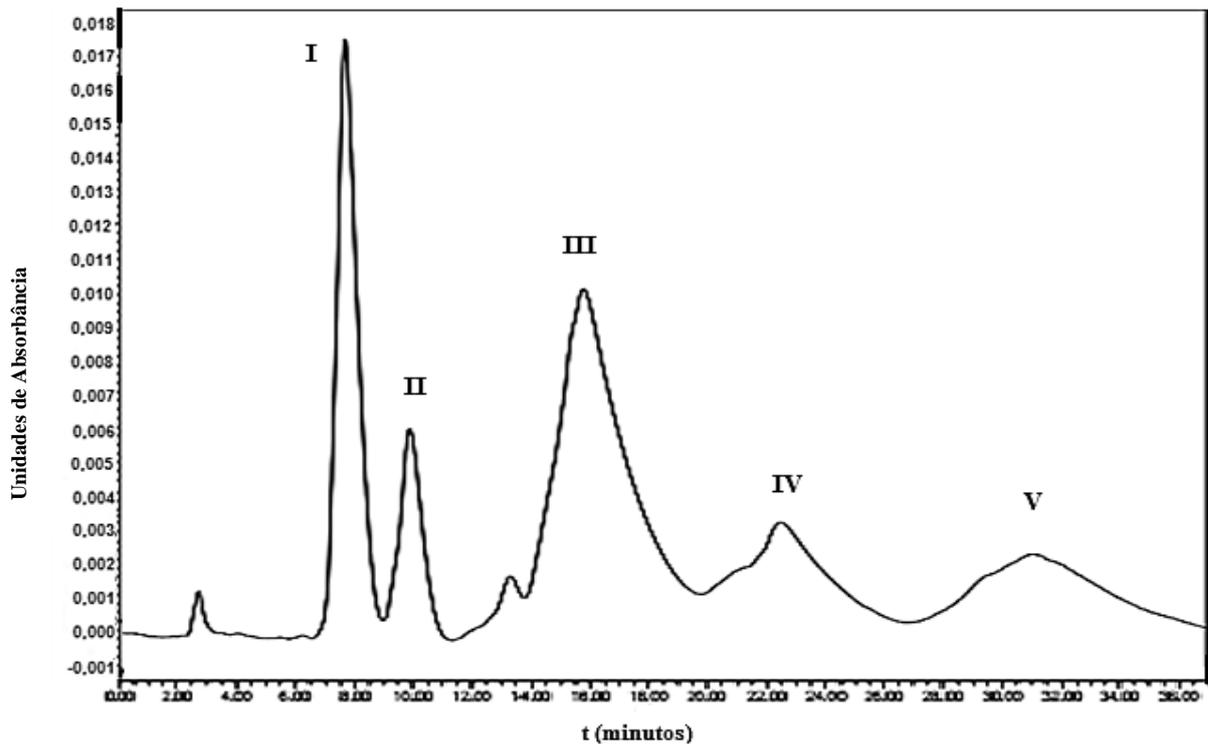
Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2 Isolamento dos Ácidos Anacárdicos

O perfil cromatográfico da separação dos compostos presentes na injeção de 100 mg de LCC, executada por HPLC em escala preparativa está exposto na Figura 7, onde estão descritos: (I) cardol, (II) cardanol, (III) AcAn trieno, (IV) AcAn dieno e (V) AcAn monoeno. A ordem de eluição dos compostos isolados ocorre em função da polaridade de cada um deles. No caso dos AcAn's o fator determinante para ordem de eluição é o grau de insaturação presente na cadeia lateral (OIRAN FILHO , 2017).

O isolamento das 7 corridas (n=7) foi obtido de maneira satisfatória. Os ácidos anacárdicos foram isolados nos seguintes tempos de retenção, de 14,0 min a 19,5 min, de 21,5 min a 25,4 min e de 27,6 min a 36,5 min, para os ácidos anacárdicos trieno, dieno e monoeno, respectivamente. Pois, a ordem de eluição e os tempos de retenção dos compostos estão de acordo com as reportadas por Oiran Filho *et al.*, (2017).

Figura 10: Perfil cromatográfico (HPLC-UV/VIS preparativo) de LCC (100 mg.mL⁻¹). (I) cardol, (II) cardanol, (III) AcAn trieno, (IV) AcAn dieno e (V) AcAn monoeno.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As frações obtidas e os tempos de retenção estão representados na Tabela 3 abaixo.

Tabela 3: Parâmetros das frações coletadas e o grau de pureza via HPLC-UV/VIS em escala preparativa.

Frações	Composto	Tempo de retenção (min.)
F1	Ácido anacárdico (15:3)	14,0 a 19,5
F2	Ácido anacárdico (15:2)	21,5 a 25,4
F3	Ácido anacárdico (15:1)	27,6 a 36,9

Fonte: Elaborada pelo autor.

Foi observada na fração 3 a presença do ácido anacárdico 17:3. Isso pode ter ocorrido, pois o mesmo possui um tempo de retenção próximo ao do ácido anacárdico 15:1, em decorrência dos dois possuírem polaridade semelhante (YULIANA *et al.*, 2014), devido as variações no tamanho da cadeia carbônica e do grau de insaturação. Esses ácidos anacárdicos de cadeia carbônica diferente de 15 formam uma pequena parcela de interferentes presentes nos compostos isolados. Ácidos anacárdicos com cadeias contendo 12, 13 e 17 carbonos são comumente encontrados em LCC (ČESLA *et al.*, 2006; JERZ *et al.*, 2012).

5.3 Produtividade e consumo de solvente

Os resultados obtidos a partir das equações 3 e 4, expostos na Tabela 4, levaram em consideração os dados do sistema e os parâmetros utilizados, fornecem valores para consumo de solvente e produtividade em função da concentração de ácidos anacárdicos, calculadas para o sistema preparativo.

Os resultados de produtividade obtidos foram 0,6791, 0,4416 e 1,325 g.h⁻¹ por g de adsorvente para os ácidos anacárdicos (15:1), (15:2) e (15:3), respectivamente, no sistema preparativo. Comparando o somatório da produtividade dos AcAn's (2,4458 g. h⁻¹) com o obtido por Oiran Filho, (2017) que foi de 1,63 g.h⁻¹ por g de adsorvente para o sistema preparativo, foi possível observar que o método utilizado para o isolamento dos ácidos anacárdicos apresentou uma alta produtividade.

Tabela 4: Valores para consumo de solvente orgânico e produtividade, para sistema HPLC em escala preparativa para os AcAn's. (15: 1), (15: 2) e (15: 3).

Ácido Anacárdico	Produtividade (g.h ⁻¹ /g adsorvente)	Consumo de solvente (mL.mg ⁻¹)
(15:1)	0,6791	2,70
(15:2)	0,4416	4,15
(15:3)	1,3250	1,39
Total	2,4458	8,24

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os valores obtidos no consumo de solvente para o HPLC preparativo foram de 2,27; 4,15 e 1,39 mL.mg⁻¹ para os ácidos anacárdicos monoeno (15:1), dieno (15:2) e trieno (15:3), respectivamente. Quando comparado o somatório desses valores com o valor obtido por Oiran Filho *et al.*,(2017) que foi de 11,09 mL.mg⁻¹ a quantidade de solvente consumida na escala preparativa foi satisfatório. Os valores obtidos estão dentro da faixa dos resultados reportados na literatura que variam de 0,5 até 17 mL.mg⁻¹, de acordo com cada molécula alvo isolada (MILLER *et al.*, 2003; GRILL *et al.*, 2004; BAE *et al.*, 2006 ; OIRAN FILHO, 2017).

6 CONCLUSÃO

O isolamento dos ácidos anacárdicos trieno (15:3), dieno (15:2) e monoeno (15:1), com tempos de retenção de 14,0 min a 19,5 min, de 21,7 min a 25,4 min e de 27,6 min a 36,5 min, respectivamente, foi obtido de maneira satisfatória, produzindo padrões analíticos com alta produtividade e baixo consumo de solvente.

Foram identificados nas frações isoladas no LCC os seguintes ácidos anacárdicos (15:1), (15:2), (15:3) e (17:3), a identificação foi realizada por espectrometria de massas, através de suas massas moleculares e seus respectivos íons fragmentos.

O método cromatográfico utilizado mostrou-se reprodutível, sendo capaz de isolar os ácidos anacárdicos presentes na amostra de LCC de modo rápido, menos agressivo ao meio ambiente e mais econômico, em relação ao solvente utilizado, pois o metanol apresenta uma toxicidade menor do que a acetonitrila, que é o solvente utilizado na escala analítica.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, T. S. et al. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1075-1080, 2004.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; JALES, K. A.; ABREU, L. N.; LIMA, A.; ROSSETTI, A. G.; SILVEIRA, E. R. Determinação de ácidos anacárdicos em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 77-81, 2003.
- ANTONIASSI, R. **Prensagem em pequena escala**. Agencia Embrapa Informação de Tecnologia-Ageitec. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcudlguwx.html>. Acesso em: 16 maio 2019.
- ARCANJO, M. R. A.; FERNANDES, F. A. N.; SILVA JR, I. J. Separation of lactic acid produced by hydrothermal conversion of glycerol using ion-exchange chromatography. **Adsorption Science & Technology**, v. 33, n. 2, p. 139-151, 2015. ISSN 0263-6174.
- AUBIN, A.; CLEARY, R. Analytical HPLC to preparative HPLC: scale-up techniques using a natural product extract. **Waters Application Note 720003120EN**, 2009.
- AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013. ISSN 0260-8774.
- BAE, Y.; MOON, J.; LEE, C. Effects of feed concentration on the startup and performance behaviors of simulated moving bed chromatography. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 45, n. 2, p. 777-790, 2006. ISSN 0888-5885.
- BOUSLIMANI, A. et al. Mass spectrometry of natural products: current, emerging and future technologies. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 6, p. 718-729, 2014.
- CAVALCANTE, J. M. **Extração de alquilfenóis da casca, fenólicos da película e efeito do processamento industrial sobre constituintes da amêndoa de castanha de caju**. Tese de doutorado- Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Fortaleza, 2014.
- ČESLA, P. et al. Characterization of anacardic acids by micellar electrokinetic chromatography and mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1115, n. 1, p. 253-259, 2006. ISSN 0021-9673.
- DE OLIVEIRA, V. M. et al. New treatments for Chagas disease and the relationship between chagasic patients and cancers. **Cancer Research Journal**, v. 2, n. 6-1, p. 11-29, 2014.
- ERŞAN, S. et al. Identification of phenolic compounds in red and green pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls (exo-and mesocarp) by HPLC-DAD-ESI-(HR)-MS n. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 26, p. 5334-5344, 2016. ISSN 0021-8561.

FAO. **Statistic Division**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017.

FARIA, P.A.; FONSECA, N. C. P. CAJU: O sabor do nordeste. **Revista de Gastronomia**, v. 1, n. 1, 2019.

GANDHI, T.; PATEL, M.; DHOLAKIYA, B. Extraction protocol for isolation of CNSL by using protic and aprotic solvents from cashew nut and study of their physico-chemical parameter. **Polish Journal of Chemical Technology**, Pol. J. Chem. Tech., Vol. 15, No. 4, 2013.

GANDHI, T.; PATEL, M.; DHOLAKIYA, B. Studies on effect of various solvents on extraction of cashew nut shell liquid (CNSL) and isolation of major phenolic constituents from extracted CNSL. **Journal of Natural Products Plant Resource**, v. 2, n. 1, p. 135, 2012.

GAZZOLA, J. et al. A amêndoa da castanha-de-caju: composição e importância dos ácidos graxos-produção e comércio mundiais. In: **Área de Informação da Sede-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In.: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 14., 2006, Fortaleza, 2006.

GRILL, C. M.; MILLER, L.; YAN, T. Q. Resolution of a racemic pharmaceutical intermediate: A comparison of preparative HPLC, steady state recycling, and simulated moving bed. **Journal of Chromatography A**, v. 1026, n. 1, p. 101-108, 2004. ISSN 0021-9673.

GUILLARME, D. et al. Method transfer for fast liquid chromatography in pharmaceutical analysis: application to short columns packed with small particle. Part I: isocratic separation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, n. 3, p. 475-482, 2007. ISSN 0939-6411.

HOLLANDS, A. et al. Natural product anacardic acid from cashew nut shells stimulates neutrophil extracellular trap production and bactericidal activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 27, p. 13964-13973, 2016. ISSN 0021-9258.

HUANG, H. et al. Anacardic acid induces cell apoptosis associated with induction of ATF4-dependent endoplasmic reticulum stress. **Toxicology Letters**, v. 228, n. 3, p. 170-178, 2014. ISSN 0378-4274.

IZZO, P. T.; DAWSON, C. R. Cashew nut shell liquid. VI. The olefinic nature of anacardic acid. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 14, n. 6, p. 1039-1047, 1949. ISSN 0022-3263

JERZ, G. et al. Anacardic acid profiling in cashew nuts by direct coupling of preparative high-speed countercurrent chromatography and mass spectrometry (prep HSCCC-ESI-/APCI-MS/MS). In: (Ed.). **Recent Advances in the Analysis of Food and Flavors**: ACS Publications, 2012. p.145-165. ISBN 1947-5918.

JIN, G. et al. Practical method for the definition of chromatographic peak parameters in preparative liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 39, n. 20, p. 3917-3926, 2016. ISSN 1615-9314.

LANÇAS, F. M. et al. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009.

LEMES, L. F. N. et al. Cardanol-derived AChE inhibitors: towards the development of dual binding derivatives for Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 108, p. 687-700, 2016. ISSN 0223-5234.

MACHADO, V. A. ; OLIVEIRA, L. E.; SANTOS, S. E.; OLIVEIRA, A. J. Avaliação de um secador solar sob convecção forçada para a secagem do pedúnculo de caju. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.1, p. 01 - 07 janeiro/março de 2011.

MAIA-SILVA, C. et al. **Guia de plantas visitadas por abelhas da caatinga**. 1ª ed. Fortaleza: Fundação Brasil Cidadão, 2012. 191 p.

MASUOKA, N.; SHIMIZU, K.; KUBO, I. Antioxidant activity of anacardic acids. In: (Ed.). **Natural Antioxidants and Biocides from Wild Medicinal Plants**: Cabi, Nosworthy Way, Wallingford, Oxfordshire OX10 8DE UK, 2013. p.137-147.

MATOS, X. E.J.; SILVA, A. J. F.; VIEIRA, B. P. Solventes para extração do líquido da castanha de caju (LCC) e compatibilidade ambiental. **Revista Tecnologia**. Fortaleza, v. 29, n. 1, p. 101-109, jun. 2008. 103

MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D.; MELE, Giuseppe. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 732-741, 2009.

MENDES, L. M. R. **Isolamento bioguiado dos compostos adstringentes do pedúnculo de caju**. Dissertação de mestrado- Universidade Federal do Ceara, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Fortaleza, 2019.

MILLER, L. et al. Batch and simulated moving bed chromatographic resolution of a pharmaceutical racemate. **Journal of Chromatography A**, v. 1006, n. 1, p. 267-280, 2003. ISSN 0021-9673.

MORAIS, S. M. et al. Anacardic acid constituents from cashew nut shell liquid: NMR characterization and the effect of unsaturation on its biological activities. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 1, p. 31, 2017.

NAGABHUSHANA, K. S.; RAVINDRANATH, B. Efficient medium-scale chromatographic group separation of anacardic acids from solvent-extracted cashew nut (*Anacardium occidentale*) shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 2381-2383, 1995.

NETO, L. et al. Characterization of cytotoxic activity of compounds derived from anacardic acid, cardanol and cardol in oral squamous cell carcinoma. **BioMed Central**. p.P30. 2014

NORÕES, C. Cajueiro Anão-Precoce Clone BRS 189. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2014. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/1696002/cajueiro-anao-precoce-clone-brs-189>>. Acesso em: 14 de maio, 2019.

NUNES, G. A. **Utilização do ácido anacárdico e do cardanol como substratos para a reação de metátese e preparação de xantonas e tioxantonas.** Dissertação de Mestrado Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2014.

OIRAM FILHO, F. et al. Development and Validation of a Reversed Phase HPLC Method for Determination of Anacardic Acids in Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid. **Journal of Chromatographic Science**, v. 56, n. 4, p. 300-306, 2017.

OIRAN FIHLO, F. **isolamento em escala preparativa de ácidos anacárdicos provenientes do líquido da casca da castanha do caju (LCC).** Dissertação de mestrado- Universidade Federal do Ceara, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Fortaleza, 2017.

OSMARI, M. P., MATOS, L. F., SALAB, B. L., DIAZ, T. G., GIOTTO, F. M.. Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal; **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. Vol. 9, No 3, pp 143-149, 2015.

PARAMASHIVAPPA, R. et al. Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2548-2551, 2001. ISSN 0021-8561.

PERES, Terezinha Bonanho. Noções básicas de cromatografia. **Revista Biológica, São Paulo**, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

PIGHINELLI, A. L. M. T. et al. Otimização da prensagem de grãos de girassol e sua caracterização. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2009. ISSN 1415-4366.

RODRIGUES, F. H. A. et al. Comparison between physico-chemical properties of the technical cashew nut shell liquid (CNSL) and those natural extracted from solvent and pressing. **Polímeros**, v. 21, n. 2, p. 156-160, 2011. ISSN 0104-1428.

SEONG, Y. et al. Induction of the endoplasmic reticulum stress and autophagy in human lung carcinoma A549 cells by anacardic acid. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 68, n. 2, p. 369-377, 2014. ISSN 1085-9195.

SERRANO, L. A. L.; OLIVEIRA, VH de. Aspectos botânicos, fenologia e manejo da cultura do cajueiro. **Agronegócio Caju: práticas e inovações. Brasília: Embrapa**, p. 77-165, 2013.

SERRANO, L. A. L.; PESSOA, P. F. A. de P. **Aspectos econômicos da cultura do cajueiro. Capítulo 1**, p. 1-12, 2016.

SILVA JR, I. J. et al. Cromatografia em leito móvel simulado na produção de substâncias enantiomericamente puras ou enriquecidas em larga escala. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1027-1037, 2006.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to Modern Liquid Chromatography**. John Wiley & Sons, 2011. ISBN 1118210395.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L.. **Practical HPLC Method Development, Second Edition**, p. 616-642, 2012. ISSN 1118592018.

SOUZA, V. D. **Separação de ácido anacárdico a partir do líquido da castanha de caju (LCC)**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação)- Universidade Federal do Ceara, Centro de Ciências, curso de Química. Fortaleza, 2017.

TOYOMIZU, M. et al. Reducing effect of dietary anacardic acid on body fat pads in rats. **Animal Science Journal**, v. 74, n. 6, p. 499-504, 2003. ISSN 1740-0929.

TREVISAN, M. T. S. et al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale* L.) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 2, p. 188-197, 2006.

YULIANA, M. et al. Separation and purification of cardol, cardanol and anacardic acid from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut-shell liquid using a simple two-step column chromatography. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, n. 5, p. 2187-2193, 2014. ISSN 1876-1070.

YULIANA, N. D. et al. Metabolomics for the rapid dereplication of bioactive compounds from natural sources. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 2, p. 293-304, 2013. ISSN 1568-7767.