

CARACTERIZAÇÃO, POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA, DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM PEDÚNCULOS DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.)

TÂNIA DA SILVEIRA AGOSTINI-COSTA *
JOÃO ROCHA DOS SANTOS **
DEBORAH DOS SANTOS GARRUTI *
TEREZINHA FEITOSA *

O objetivo deste trabalho foi a determinação dos compostos fenólicos relacionados com a cor e com o sabor residual dos pedúnculos de clones de cajueiro anão precoce. As antocianinas e os taninos foram determinados por cromatografia em papel e, para identificação de lipídios fenólicos desenvolveu-se metodologia simples e eficiente, utilizando cromatografia em camada delgada. As antocianidinas foram os principais flavonóides encontrados nas películas dos pedúnculos de caju. Dentre estes, a delphinidina foi encontrada em todos os clones, enquanto que a pelargonidina mostrou-se intensa nos clones EMBRAPA 51 (vermelho) e CP 76 (avermelhado), não tendo sido encontrada no clone CP 06 (amarelo). A quercetina foi o único flavonol identificado, produzindo manchas intensas nos cromatogramas do clone CP 76. Nos sucos integrais foi encontrado um tanino condensado, associado ao sabor adstringente. No extrato etéreo dos mesmos sucos foi encontrado o ácido anacárdico, associado ao sabor residual, que permanece no suco mesmo após clarificação com gelatina.

1 INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), planta disseminada em todo o mundo tropical, vem despertando interesse cada vez maior na região Nordeste do Brasil devido, principalmente, à geração de emprego e renda (1). O potencial de aproveitamento do pedúnculo tem aumentado consideravelmente, podendo, num futuro próximo, ocupar lugar de destaque.

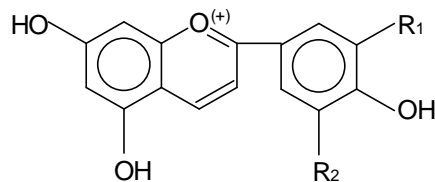
* Pesquisador, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE (e-mail: tania@cnpat.embrapa.br).

** Estagiário da EMBRAPA, Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Os compostos fenólicos presentes nas plantas estão relacionados, principalmente, com a proteção (2), exercendo efeito sobre microorganismos que as infectam e animais que as esfolam. Entretanto, estes compostos podem afetar a qualidade das frutas, conferindo atributos sensoriais como cor, textura, amargor e adstringência (3, 4). Outros estão envolvidos na formação de pigmentos indesejáveis, mediante oxidação enzimática, ou na formação de sedimentos em vinhos, sucos de frutas e cervejas, devido a combinação de polifenóis com proteínas (5).

Os flavonóides são compostos fenólicos, derivados do núcleo flavona C₆-C₃-C₆, sendo que as várias classes são diferenciadas entre si pelo grau de insaturação e de oxidação no segmento dos três carbonos intermediários (6). As antocianinas merecem atenção especial, pois constituem o mais importante e diversificado grupo de corantes distribuído no reino vegetal. As antocianidinas (Figura 1) podem ser obtidas pela hidrólise ácida dos glicosídios coloridos (antocianinas), ou pelo tratamento ácido de leucoantocianidinas destituídas de cor (7).

FIGURA 1 - ANTOCIANIDINAS MAIS COMUNS EM FRUTAS

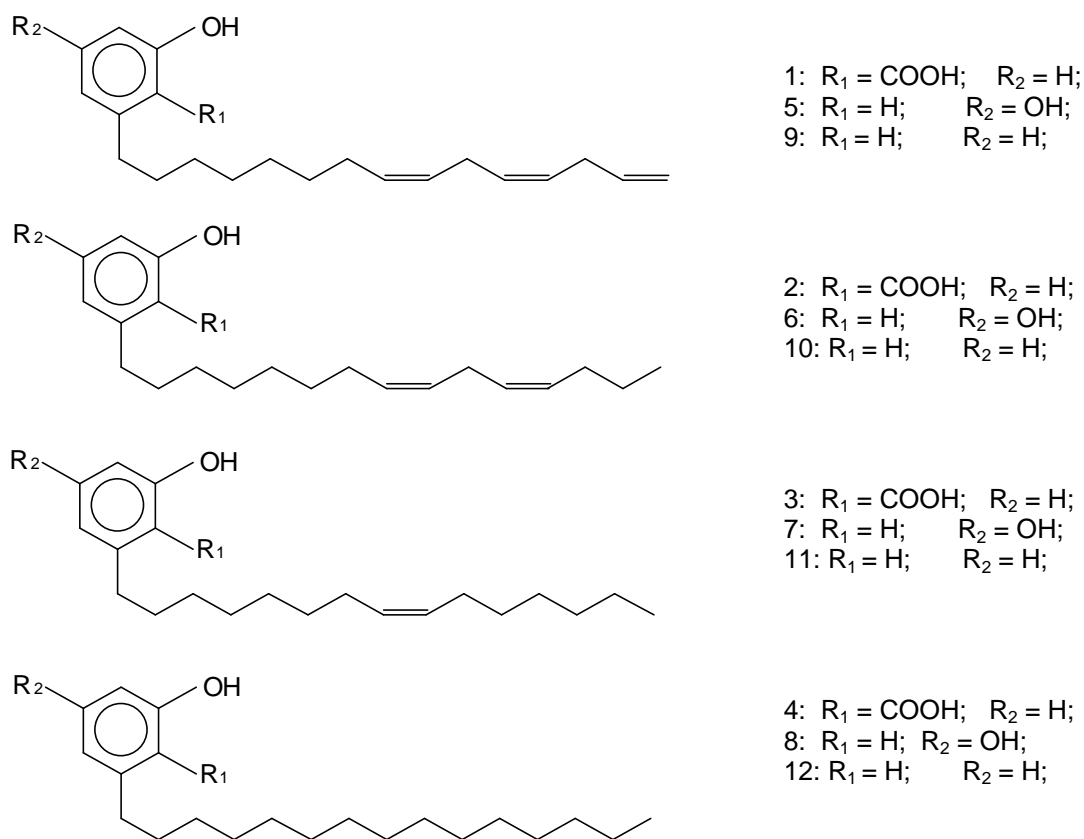


| Antocianidina | R ₁ | R ₂ |
|---------------|----------------|----------------|
| Pelargonidina | H | H |
| Cianidina | OH | H |
| Delfinidina | OH | OH |
| Peonidina | Ome | H |
| Malvidina | Ome | OMe |

Os taninos são definidos como compostos fenólicos de massa molecular relativamente elevada, solúveis em água e capazes de formar complexos razoavelmente fortes com proteínas e outros polímeros, sob condições específicas de concentração e pH (8). A combinação dos compostos tânicos com as proteínas da saliva produz sensação de secura na mucosa, seguida de contração da membrana, conhecida como adstringência (9). Concentrações elevadas destes compostos podem comprometer o sabor e a palatabilidade de frutas destinadas ao consumo *in natura* e à produção de sucos (10).

Os lipídios fenólicos, principais componentes do líquido da casca da castanha de caju (LCC), apresentam propriedades rubefacientes e vesicantes, produzindo dermatites eczematosas, quando em contato com a pele e mucosas (11). Os principais componentes são constituídos pelos ácidos anacárdicos, derivados do ácido salicílico, seguidos pelos cardóis, derivados do resorcinol, e menores teores de cardanóis (Figura 2). O LCC com alto teor de cardanol pode ser obtido pela descarboxilação térmica do LCC natural. As cadeias laterais de 15 carbonos podem conter uma, duas ou três ligações insaturadas nas posições 8, 11 e 14.

FIGURA 2 - ESTRUTURA DOS PRINCIPAIS LIPÍDIOS FENÓLICOS PRESENTES NO LCC



Ácidos anacárdicos: 1-4; cardóis: 5-8; cardanóis: 9-12.

O objetivo deste trabalho foi a determinação de compostos fenólicos presentes em pedúnculos de caju, mediante técnicas simples e acessíveis, visando, principalmente, a caracterização química de alguns componentes associados à cor e à palatabilidade dos pedúnculos de caju.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

As amostras foram constituídas por 2 lotes de 1 kg de pedúnculos de cajueiros-anão-precoce, clones CP76, CP06, CP09, CP1001, e EMBRAPA 51, provenientes das estações experimentais da EMBRAPA em Pacajus e Paraipaba (CE). Os pedúnculos foram colhidos aleatoriamente, de acordo com a disponibilidade de frutos, entre os meses de outubro de 97 e janeiro de 98.

Após a colheita, os pedúnculos foram lavados em água corrente, separados da castanha, despelculados e prensados, manualmente, para a extração do suco. As películas foram trituradas em almofariz. Obteve-se o líquido da castanha de caju (LCC) natural mediante corte, seguido de prensagem manual da casca da castanha. Utilizou-se, também, o LCC descarboxilado por aquecimento a 170 °C, obtido no mercado local.

2.2 MÉTODOS

• Flavonóides

As películas de caju foram hidrolisadas com HCl 2N a 90 °C, por 45 minutos. Os flavonóides foram extraídos com álcool amílico e acetato de etila e separados por cromatografia em papel, utilizando-se forestal (ácido acético-água-HCl 30:10:3) como fase móvel. As manchas, reveladas ou não com vapor de amônia, foram observadas no espectro visível e no ultravioleta (7).

• Taninos

Os sucos de caju, integral e clarificado com gelatina (marca Leiner, aproximadamente 2 mg/mL), foram diretamente aplicados em papel e eluídos com forestal. Os cromatogramas foram revelados com cloreto férrico 0,1% e ferrocianeto de potássio 0,1% (1:1) e vanilina 10% em HCl (12).

• Lipídios fenólicos

Para detecção dos lipídios fenólicos está sendo apresentado método simples e acessível, empregando-se a técnica da cromatografia em camada delgada. O LCC natural e o descarboxilado, juntamente com o ácido salicílico, foram utilizados como padrões de lipídios fenólicos (ácido anacárdico, cardol e cardanol). Os lipídios presentes nos sucos recém

prensados foram extraídos com acetato de etila e concentrados a temperatura de 35 °C, sob vácuo. Amostras e padrões foram analisados por cromatografia em camada delgada de sílica, utilizando-se como fase móvel 3% de metanol em benzeno. As manchas foram reveladas, de acordo com recomendações para compostos fenólicos (12), utilizando-se cloreto férrico 0,1% e ferrocianeto de potássio 0,1% (1:1) e vanilina/HCl (10%).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

• Flavonóides

Os cromatogramas de extratos de películas de caju apresentaram quatro manchas na presença e ausência de amônia, conforme os valores de relações de frente (Rf) dispostos na Tabela 1. As manchas pink e avermelhadas, que tornaram-se azuis na presença de amônia, foram atribuídas às antocianidinas e a mancha amarela ao flavonol (compostos fenólicos monoméricos). Considerando-se os valores de Rf tabelados por HARBORNE (7), as antocianidinas foram identificadas como delphinidina, cianidina e pelargonidina e o flavonol como quercetina. As antocianidinas, unidades fenólicas formadoras das antocianinas, apresentam grande importância associada à coloração dos frutos (6). A delphinidina apresentou-se como a mancha de antocianidina mais intensa em todos os clones avaliados, sendo que a quercetina destacou-se no clone CP 76 (avermelhado), conforme a Tabela 2. A pelargonidina mostrou-se intensa nos Clones EMBRAPA 51, CP 1001 (vermelhos) e CP 76, não tendo sido encontrada no CP 06 (amarelo). A cianidina apresentou-se muito discretamente em todos os clones. SATYNARAYANA *et al.* (13) identificaram delphinidina, cianidina, pelargonidina quercetina e myricetina em pedúnculos de cajus não especificados.

TABELA 1 - FLAVONÓIDES ENCONTRADOS EM PELÍCULAS DE CAJU

| Rf | Ausência NH ₃ | Presença de NH ₃ | Flavonóide |
|--------|--------------------------|-----------------------------|---------------|
| 1 0,32 | pink | azul | delfinidina |
| 2 0,41 | amarelo | amarelo brilhante | quercetina |
| 3 0,54 | pink | azul | cianidina |
| 4 0,68 | avermelhado | azul | pelargonidina |

Rf = Relação de frente.

TABELA 2 - FLAVONÓIDES PRESENTES NOS DIFERENTES CLONES DE CAJU

| FLAVONÓIDE S | CP 06 (amarelo) | CP 76 (avermelhado) | EMBRAPA 51 (vermelho) | CP 1001 (vermelho) |
|-------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Delfinidina | xxx | xx | xxx | xxx |
| Cianidina | x | x | x | x |
| Pelargonidina | - | xx | xx | xxx |
| Quercetina | x | xxx | x | x |

Intensidade de cada mancha em relação às outras provenientes da mesma origem: xxx = intensa; xx = intensidade média; x = fraca; - = ausente.

• **Taninos condensados**

Os cromatogramas de sucos de caju integral, provenientes de todos os lotes analisados (clones CP 06, CP 09, CP 1001, CP 76 e Embrapa 51), apresentaram duas manchas de coloração azul na presença de cloreto férrico/ferrocianeto de potássio. A primeira, adsorvida na origem do cromatograma e ausente no suco clarificado com gelatina, mostrou-se vermelha na presença de vanilina, indicando taninos (compostos fenólicos poliméricos, que precipitam-se com proteínas) derivados do resorcinol ou floroglucinol. No caqui, os taninos são constituídos, principalmente, pela leucodelfinidina, provavelmente conjugada com ácido gálico, galocatequina e galato de galocatequina (14). A segunda mancha, proveniente do suco de caju integral, revelada apenas com cloreto férrico/ferrocianeto de potássio foi identificada como ácido ascórbico, ou vitamina C, composto naturalmente presente no pedúnculo do caju.

• **Lipídios fenólicos**

Foram encontradas, em cromatogramas de LCC natural, revelados com cloreto férrico/ferrocianeto de potássio (reagente universal para compostos fenólicos), uma mancha marrom e duas manchas azuis, sendo que as últimas mostraram-se vermelhas na presença de vanilina (utilizada para compostos fenólicos, contendo duas ou mais hidroxilas em posições alternadas), conforme a Tabela 3. O LCC descarboxilado, com alto teor de cardanol, apresentou apenas duas manchas azuis, anteriormente descritas, e uma lilás, mais facilmente eluída com a frente do solvente. O

cromatograma de ácido salicílico, núcleo fenólico do ácido anacárdico, apresentou uma mancha marrom, semelhante à encontrada no LCC natural. As manchas marrons, presentes nos cromatogramas de LCC natural, foram identificadas como ácido anacárdico. As manchas azul petróleo, reativas com vanilina, foram identificadas como cardol, derivado do resorcinol, com diferentes níveis de insaturação. A mancha lilás, presente no LCC descarboxilado, foi atribuída ao cardanol. O ácido anacárdico foi encontrado nos sucos de todos os clones de caju analisados. Assim a presença destes foi associada ao sabor residual (vesicante) dos frutos, que permanece nos sucos, mesmo após a clarificação com gelatina. O método apresentado mostrou-se simples e eficiente para identificação do ácido anacárdico no suco de caju.

Embora os compostos fenólicos sejam negativamente associados à palatabilidade dos pedúnculos e dos sucos, principalmente, no mercado externo, o consumo contínuo destes produtos, devido a presença dos ácidos anacárdicos e de elevados teores de vitamina C, parece estar sendo vantajoso no controle de tumores carcinogênicos (15, 16).

TABELA 3 - LIPÍDIOS FENÓLICOS PRESENTES NO LCC E NO PEDÚNCULO DE CAJU

| AMOSTRA | Rf | FeCl ₃ /K ₃ Fe(CN) ₆ | VANILINA | LIPÍDIO FENÓLICO |
|--------------------|------------------------|---|----------|------------------|
| LCC natural | Rf ₁ = 0,18 | marrom | nr | ácido anacárdico |
| | Rf ₂ = 0,19 | azul petróleo | vermelho | cardol |
| | Rf ₃ = 0,49 | azul petróleo | vermelho | cardol |
| LCC descarboxilado | Rf ₁ = 0,20 | azul petróleo | vermelho | cardol |
| | Rf ₂ = 0,51 | verde azulado | vermelho | cardol |
| | Rf ₃ = 0,79 | lilás | nr | cardanol |
| Extrato de caju | Rf = 0,19 | marrom | nr | ácido anacárdico |
| Ácido salicílico | Rf = 0,15 | marrom | nr | --- |

nr = não reagente.

Rf = Relação de frente.

4 CONCLUSÃO

As películas de caju apresentaram três antocianidinas e um flavonol, associados com a coloração dos pedúnculos, enquanto que, nos sucos integrais, foram encontrados um tanino e um lipídio fenólico, associados ao sabor residual dos mesmos. O método para determinação de lipídios fenólicos no suco de caju, com cromatografia em camada delgada mostrou-se simples e eficiente.

Abstract

The objective of this research was the determination of phenolic compounds associated with color and residual taste in cashew apples through simple and accessible techniques. Anthocyanidins were the most abundant flavonoids found in cashew-apple peels by paper chromatography. Delphinidin was found in all the clones, whereas pelargonidin was intense in EMBRAPA 51 (red) and CP 76 (reddish), and was not found in CP 06 (yellow). Only quercetin was identified as flavonol, producing intense spots in the chromatogram of clone CP 76. In all juices, condensed tannins associated with astringency were found. In ether extract of the same juices, the anacardic acid was detected, which may be associated to the residual taste, that remains in the juice even after clarification with gelatin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 RAMOS, A. D., BLEICHER, E., FREIRE, F. C. O., CARDOSO, J. E., PARENTE, J. I. G., BARROS, L. M., CRISOSTOMO, L. A., FROTA, P. C. E., CORREA, M. P. F., PESSOA, P. F. P., MELO, Q. M. S., OLIVEIRA, V. H. **A cultura do caju**. Brasília : Embrapa-SPI, 1996. 96 p. (Coleção Plantar, 34).
- 2 PUTMAN, L. J, BUTLER, L. G. Separation of high weight sorghum procyanidins by high-performance liquid chromatography. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Columbus, v. 37, p. 943-946, 1989.
- 3 KUBOTA, N. Phenolic content and L-phenylalanine ammoni-lyase activity in peach fruit. In: MODERN methods of plant analysis: fruit analysis. Berlin : Springer, 1995. v. 18.
- 4 AGBOR-EGBE, T., RICKARD, J. Identification of phenolic compounds in edible aroids. **Journal of Science of Food and Agriculture**, London, v. 51, p. 215-221, 1990.
- 6 ROBARDS, K., ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: a review. **Analyst**, Cambridge, v. 122, p. 11R-34R, 1997.

- 7 HARBORNE, J. B. **Comparative biochemistry of the flavonoids.**
New York : Academic Press, 1967. 383 p.
- 8 JOSLYN, M. A, GOLDSTEIN, J. L. Adstringency of fruits and fruit products in relation to phenolic content. **Advances in Food Research**, New York, v. 13, p. 179-209, 1964.
- 9 BATE-SMITH, E. C. Flavonoid compounds in foods. **Advances in Food Research**, New York, v. 5, p. 262-295, 1954.
- 10 HASLAM, E. Vegetable tannins. In: STUMPF, P. K., CONN, E. E. **The biochemistry of plants: a comprehensive treatise.** New York : Academic Press, v. 7, p. 527-556, 1981.
- 11 GEORGE, J., KUTTAN, R. Mutagenic, carcinogenic activity of cashewnut shell liquid. **Cancer Letters**, Washington, v. 112, p. 11-16, 1997.
- 12 LAKSHMINARAYANA, S., MATHEW, A. G., PARPIA, H. A. B. Changes in polyphenols of sapota fruit during maturation. **Journal of Science of Food and Agriculture**, Columbus, v. 20, p. 651-653, 1969.
- 13 SATYNARAYANA, D., MYTHIRAYEE, C., KRISNAMURTY, V., MADHAVAKRI-SHNA, W. Studies on the polyphenols of cashew apple (*Anacardium occidentale*). **Leather Science**, Adyar, v. 25, n. 1, p. 51-54, 1968.
- 14 TAIRA, S. Astringency in persimmon. In: MODERN methods of plant analysis: fruit analysis. Berlin : Springer, 1995. v. 18.
- 15 KUBO, I., MASAMITSU, O, VIEIRA, P. C., KOMATSU, S. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Columbus, v. 41, p. 1012-1015, 1993.
- 16 ITOKAWA, Y., TOTSUKA, J., NAKAHARA, K., TAKEYA, K., LEPOITTEVIN, J.P., ASAKAWA, Y. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 35, p. 3016, 1987.