



## Ação antiradicalar das partes aéreas de duas matrizes de Pinha

### Antiradicalar action of the aerial parts of two Pinha arrays

Gessyca Gouveia de Oliveira<sup>(1)</sup>; Suellen Maria Albuquerque da Silva<sup>(2)</sup>;  
Marília Layse Alves da Costa<sup>(3)</sup>; Maria Gleysiane Souza dos Santos<sup>(4)</sup>;  
Kelly Cristina Barbosa Silva Santos<sup>(5)</sup>; Aldenir Feitosa dos Santos<sup>(6)</sup>

Página | 253

<sup>(1)</sup>Graduada em Farmácia; Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Maceió, Alagoas; gessycagouveia@hotmail.com;

<sup>(2)</sup>Graduada em Farmácia; UFAL; Maceió, Alagoas; suellen.smas@gmail.com;

<sup>(3)</sup>Graduanda em Licenciatura em Ciências Biológicas; Bolsista de Iniciação Científica PIBIC; Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL); E-mail: marilialayse237@gmail.com;

<sup>(4)</sup>Graduanda em Licenciatura em Ciências Biológicas; Bolsista de Iniciação Científica PIBIC; UNEAL; E-mail: gleysiane@gmail.com;

<sup>(5)</sup>Pesquisadora da UNEAL, Alagoas; E-mail: kelly.cbss@hotmail.com;

<sup>(6)</sup>Professora Titular da UNEAL, Alagoas e Docente e pesquisadora do Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais pelo Centro Universitário Cesmace. E-mail: aldenirfeitosa@gmail.com.

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 15 de agosto de 2018; Aceito em: 25 de agosto de 2018; publicado em 25 de 01 de 2019. Copyright© Autor, 2019.

**RESUMO:** A pinha (*Annona squamosa* L.) apresenta seu cultivo em diversos estados brasileiros, compreendendo principalmente a região nordeste, de modo, que sua ação antiradicalar já apresenta-se descrita, porém sua atividade biológica varia de acordo com os diversos fatores externos, tais como: avaliação, área de coleta e entre outros, o que torna relevante a análise de sua ação em áreas distintas. Neste contexto, o presente trabalho propõe determinar a ação antiradicalar, teor de fenóis e prospecção fitoquímica da espécie pinha (*A.squamosa*), a qual foi coletada em Estrela de Alagoas (pinha 1) e Palmeira dos Índios (pinha 2). Através da análise fitoquímica foram identificados os taninos flobatênicos, flavonas, flavonóis e xantonas, catequinas, flavononas, esteroides e saponinas. Por meio da interpolação das absorvâncias das amostras da espécie vegetal obteve-se na amostra Pinha 1 um teor de fenóis de 1584,94 mg EAG/g de extrato que sobressaiu a Pinha 2. E o teor de flavonoides de ambas as amostras apresentaram teores semelhantes. A atividade antioxidante (AAO%) pelo método do radical livre DPPH tanto da pinha 1 como da pinha 2, demonstraram um resultado significativo nas concentrações de 100 µg.mL<sup>-1</sup> e 200 µg.mL<sup>-1</sup>, apresentando uma AAO% de 92,17 e 97,1. Enquanto, pelo método de captura do radical ABTS e pelo método de FRAP, a pinha 1 demonstrou um maior potencial antioxidante quando comparada com a pinha 2. Portanto, em todos os testes realizados, a amostra coletada no município de Estrela de Alagoas (Pinha 1) apresentou resultado superior a amostra Pinha 2.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade antioxidante, Benefícios, Compostos fenólico, Pinha.

**ABSTRACT:** The pine (*Annona squamosa* L.) is a species of northeastern region, which has its antiradical action occurring, at the same time its biological nature varies according to the external factors, such as: evaluation, collection area and introduction of others, which makes it relevant to analyze their action in different areas. In this context, the present work is determined as an antiradical action, a phenol content and a phytochemical prospection of the species pinha (*A.squamosa*), a collection in Estrela de Alagoas (pinha 1) and Palmeira dos Índios (pinha 2). Phytochemical analysis revealed flobatenic tannins, flavones, flavonols and xanthenes, catechins, flavonones, steroids and saponins. By means of the interpolation of the absorbances of the plant samples found, in the sample Pinha 1 a hay content of 1584.94 mg EAG / g of Pinha 2 extract. And the content of flavonoids of both species as such: An antioxidant activity (AAO%) by the DPPH free radical method of pineapple 1 and pineapple 2, demonstrating a significant effect in the concentrations of 100 µg.mL<sup>-1</sup> and 200 µg.mL<sup>-1</sup>, presenting an AAO% of 92, 17 and 97.1. Those who, by the ABTS radical capture method and the FRAP method, showed a higher antioxidant potential when compared to pineapple 2. The resistance test was performed in a sample collected in the city of Estrela de Alagoas (Pinha 1) word result higher than sample Pineapple 2.

**KEYWORDS:** Antioxidant activity, Benefits, Phenolic compounds, Pineapple.

## INTRODUÇÃO

Desde o surgimento dos seres humanos na terra, as plantas apresentam poder curativo, que através da observação realizada pelas primeiras civilizações notou-se que as espécies vegetais tinham, em suas essências, princípios ativos que passaram a ser utilizados no combate às doenças, revelando empiricamente seu poder curativo (FREIRE et al., 2017).

Atualmente, nos países em desenvolvimento, umas das alternativas para obtenção da cura, preservação da saúde e alívio de enfermidades, encontram-se nas plantas como principais fatores de contribuição (FIRMO, et al., 2011). Proporcionando uma valorização no desenvolvimento de medicamentos a partir de espécies vegetais no mercado farmacêutico nacional e internacional, devido a relação custo-benefício, baixos efeitos colaterais a partir destes, baixos custos em relação a produção e venda, e ainda uma valorização do meio ambiente e hábitos saudáveis a partir do consumo de produtos naturais (GADELHA, et al., 2013). Segundo a OMS, dentre as 252 drogas consideradas básicas e essenciais, 11% tem origem de plantas e considera-se que 25% dos medicamentos atualmente disponíveis tem origem, direta ou indiretamente, a partir das plantas medicinais ou seu conhecimento tradicional associado (ASSIS, et al., 2015).

Entre as espécies que apresentam relevância para as indústrias farmacológicas, destaca-se a *Annona squamosa* L., conhecida popularmente como pinha, pertencente à família *Annonaceae*, ostenta cerca de 129 gêneros e mais de 2.000 espécies. É uma frutífera encontrada na região tropical e subtropical ajustadas às condições climáticas da China, África, América do Sul, Austrália, Índia, México, Estados Unidos e Tailândia. Tendo o cultivo de anonáceas impulsionados a partir de 1980, em destaque para os estados do Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará e Pernambuco) e Sudeste (São Paulo) estando atrás apenas do México em produção (LEMOS, 2014).

O aumento da produção e consumo da pinha associa-se parcialmente à presença de nutrientes na polpa ou em seus subprodutos que são aplicados em aditivos alimentares, novos alimentos e produtos farmacêuticos capazes de prevenir doenças degenerativas e crônicas (doenças cardíacas, diabetes, hipertireoidismo e câncer), através de suas propriedades medicinais e nutricionais tais como: vitaminas A, B, C, E, e K1, antioxidantes, ácidos graxos poliinsaturados e presença de minerais essenciais (SOUZA et al., 2015).

Atualmente, doenças crônicas e degenerativas têm sido correlacionadas ao estresse oxidativo, pois as espécies reativas, mais conhecidos como radicais livres, são geradas no decorrer do metabolismo do nitrogênio e oxigênio, porém quando a espécie faz uso do oxigênio ou nitrogênio no processo da respiração celular, promoverá uma partição de aminoácidos, desencadeando o estresse oxidativo (CAMPOS e LEME, 2018).

Desse modo, uma das formas de inibir ou retardar a ação dos radicais livres, se faz através dos antioxidantes, os quais agem no meio em que estão inseridos sendo neutralizados pelos antioxidantes naturais ou compartilhados indiretamente nos sistemas enzimáticos. Dentre os antioxidantes mais comuns estão o ácido ascórbico, os compostos fenólicos, os taninos, o ácido úrico, os carotenoides, as betalaínas e os pigmentos (SOUZA et al., 2017; REIS et al., 2011)

As pesquisas clínicas têm demonstrado que os antioxidantes fenólicos de frutas, cereais e vegetais são os principais fatores que contribuem para a redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas encontradas em populações cujas dietas são altas na ingestão desses alimentos (LOIZZO et al., 2012). Há uma grande necessidade de intensificar cada vez mais pesquisas com plantas no Brasil, o qual compreende uma vasta diversificada e rica flora que abrange várias espécies de plantas. Boa parte delas já possui registros de utilizações medicamentosas, e outras ainda necessitam ser estudadas, visando à identificação de seus princípios ativos e propriedades medicinais úteis no trato e/ou prevenção de algumas enfermidades (BONIL e BUENO, 2014)

Portanto, o presente trabalho teve como principal objetivo, avaliar o potencial antioxidante das partes aéreas de duas matrizes da *Annona squamosa* L. pelo método de captura do radical livre DPPH, ABTS e pelo Método de Redução do Ferro – FRAP além de identificar os metabolitos secundários presentes na espécie, através da triagem fitoquímica e quantificá-los, por meio do método Folin-Ciocalteu e flavonoides.

## PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

### Coleta do material vegetal

A coleta das partes aéreas da *Annona squamosa* L. foi realizada no município de Estrela de Alagoas (Pinha 1), Palmeira dos índios (Pinha 2) e ambas colhidas em 18 de novembro de 2014.

## Solventes e reagentes

Foram utilizados os reagentes Etanol e metanol PA, e para realizar a leitura das absorvâncias utilizou-se o espectrofotômetro. Os solventes utilizados foram destilados no próprio laboratório a partir de solventes de grau comercial adquiridos da H. Merzog.

## Obtenção do extrato etanólico bruto

O extrato etanólico das cascas do caule de *A. squamosa* foi preparado através do método de maceração. Após o processo de maceração os materiais vegetais foram transferidos para erlenmeyers e submetidos à filtração adicionando 100ml de etanol, e em seguida submetidos a um evaporador rotatório sob pressão reduzida visando à obtenção dos extratos etanólicos brutos e secos filtrado, o processo foi repetindo a cada 48 horas até extração de todo material vegetal.

## Quantificação de compostos fenólicos

A análise de compostos fenólicos das amostras vegetais da *A. squamosa* foi determinada por intermédio de espectrofotometria UV-VIS, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia já descrita na literatura SCHERER et al (2014), com adaptações para realização do teste em microplacas. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da média das absorvâncias das soluções de leitura da amostra, Equação (1) contra a curva de calibração do ácido gálico (substituição na equação da reta) e expressos como em mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. Obtendo-se a seguinte equação:  $y_1 = ax_1 + b$ . Sendo:  $y_1$  = absorvância da amostra;  $x_1$  = concentração de ácido gálico ou teor de fenóis totais expressos em mg de EAG/g do extrato;  $a$  e  $b$  os valores dos parâmetros a serem estimados.

## Quantificação de flavonóides

Na realização do teste de quantificação de flavonóides, utilizou a metodologia já descrita na literatura de Souza et al. (2011) e Alves et al. (2013), com adaptações para realização do teste em microplacas, com a quercetina sendo usada como referência. Foi preparada uma solução metanólica de cloreto de alumínio a 2% (P/V) e de quercetina na concentração de 1mg/mL. Para determinação do teor de flavonoides em cada amostra, a mesma foi testada a 1mg/mL. A placa foi mantida por 30 minutos no escuro e logo após realizou-se a leitura no espectrofotômetro a 420nm. O teor de flavonoides foi expresso em gramas de EQ (equivalente de quercetina) por mg do extrato. O teor de flavonoides é determinado por interpolação da média das absorbâncias das amostras, Equação (2), contra a curva de calibração do ácido gálico (substituição da equação da reta) e expressos como mg de EQ (equivalente de quercetina) por mg do extrato.  $Y_2 = cx_2 + d$ . Sendo:  $y_2$  = absorbância da amostra;  $x_2$  = concentração de flavonoides, expresso em mg de EQ/g do extrato;  $c$  e  $d$  os valores dos parâmetros a serem estimados.

## Determinação da Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical DPPH

Consistiu em quantificar a capacidade dos antioxidantes, presentes nos extratos, frente ao radical livre DPPH (1,1- difenil-2-picrilhidrazina). Para avaliar a atividade captadora de radical livre, o teste ocorreu em triplicata nas concentrações de 100; 50; 25; 12; 6, 3; 1,5 e 1  $\mu\text{g.mL}$  para a amostra pinha 1 e 200; 100; 50; 25; 12; 6; 3 e 1,5  $\mu\text{g.mL}$  para a amostra pinha 2 no ependorf. O valor de absorbância é convertido em atividade antioxidante percentual (AAO%) através das médias das leituras em triplicata da aplicação dos valores de AbsA, AbsB e AbsC, de acordo com a Equação (3):  $\text{AAO}\% = 100 - (\text{AbsA} - \text{AbsB} \cdot 100 / \text{AbsC})$ .

## Determinação da Atividade Antioxidante pela Captura do Radical Livre ABTS

Para a realização do teste pesou-se 1mg das amostras da *A. squamosa* e realizou a diluição em 1mL de metanol, gerando para cada amostra uma concentração de

1mg/mL. Para obtenção do radical ABTS a 7mM, foi utilizado uma solução estoque de ABTS preparada a partir da dissolução de 192 mg de ABTS em 50 ml de água destilada em balão volumétrico. Uma solução de persulfato de potássio a 140mM preparada pela adição de 378,4 mg de persulfato de potássio na água destilada também foi preparada para a utilização no teste. O radical ABTS foi preparado a partir da reação de partir da reação de 5mL da solução estoque de ABTS e 88µL da solução de persulfato de potássio, a mistura foi mantida no escuro, à temperatura ambiente, por 16 horas antes da realização do teste. Passada as 16 horas essa mistura foi diluída em álcool etílico até que sua absorbância, registrada no espectrofotômetro, marcou 0,70 na leitura de 734nm. A curva padrão foi obtida a partir do padrão Trolox, utilizando-se uma solução estoque de Trolox a 4000µM e metanol como solvente. Esta curva foi realizada nas seguintes concentrações: 2500, 2000, 1500, 1000, 500, 200 e 100µM. Realizada as diluições, 10µL foram transferidos para ependorf em triplicata junto com 990µL do radical ABTS preparado anteriormente, homogeneizando-as no agitador de tubos. Por fim foram passada para a microplaca n no volume de 250µL em triplicata, a leitura no espectrofotômetro a 734nm foi realizada após 6 minutos.

O teor de captura do radical ABTS é determinado através das médias das absorbâncias das amostras e contra a curva de Trolox e expressos como µM de Trolox por g de extrato, utilizando a equação da reta, Equação (5):  $Y_5 = g \times x_5 + h$ . Sendo:  $y_5$  = absorbância da amostra;  $x_5$  = concentração de Trolox ou teor de captura do radical ABTS expressos em µM de Trolox/ g de extrato;  $g$  e  $h$  os valores dos parâmetros a serem estimados.

### **Determinação da Atividade Antioxidante Total Pelo Método de Redução do Ferro – FRAP**

Para a realização do teste a técnica de Rufino et al. (2006) foi adaptada. Uma solução de HCl à 40Mm foi preparada através da solubilização de 1,67 mL de HCl concentrado em 500 mL com água destilada. Uma solução de 2,4,6 Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ) à 10mM dissolvendo 1,56 g de TPTZ em aproximadamente 5 mL de HCl 40 mM e completar o volume para 500 mL. solução de Cloreto Férrico ( $FeCl_3$ ) à 20mM pesando 2,7 g de cloreto férrico e diluindo em 500 mL de água destilada e

tampão acetato à 0,3M (pH3,6) Dissolvendo 1,55g de acetato de sódio em 8 mL de ácido acético glacial e completando o volume para 500 mL com água destilada. O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 25mL de tampão acetato (0,3M, pH 3,6), 2,5mL da solução TPTZ (10 mM TPTZ em 40 mM HCl) e 2,5mL de FeCl<sub>3</sub> (20mM) em solução aquosa.

A curva de calibração foi feita a partir da solução padrão Trolox 2mM que foi preparada a partir da dissolução de 25,03 mg de Trolox em 50 mL de Metanol, preparado em ependorf com soluções variando a concentração de 100 µM a 1000 µM.

O teor de redução dos íons de ferro gramas de Trolox por micromolar (µM) do extrato, determinando de acordo com o resultado da média das absorbâncias das amostras e pela curva de calibração do Trolox foi desenvolvido a partir da equação da reta, Equação (6):  $y_6 = ix_6 + j$ . Sendo:  $y_6$  = absorbância da amostra;  $x_6$  = concentração da redução dos íons de ferro, expresso em µM Trolox/g amostra;  $i$  e  $j$  os valores dos parâmetros a serem estimados.

### Triagem fitoquímica

Realizou-se pela metodologia de Matos (1988) onde foi possível obter a prospecção dos compostos: fenóis, taninospirógalicos, taninos flobafênicos, antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, flavonóis, xantonas, esteróides, triterpenóides e saponinas. A identificação dos mesmos ocorreu pela mudança de coloração.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas amostras da *A. squamosa* colhidas em novembro de 2014, no estado de Alagoas renderam dois extratos, as quais chamamos de Pinha 1 (P1) e Pinha 2 (P2). Suas massas frescas tiveram, respectivamente, valores de 280g e 230g. Após passar pelo processo de maceração, obteve-se o valor da massa seca, respectivamente, de 126g (P1) e 96g (P2). Para obtenção do extrato bruto, as amostras passaram pelo processo e filtração

e rotoevaporação (a cada 72h), processo este que durou entre os dias 12 e 19 do mês dezembro. Com isso, as amostras foram pesadas com o objetivo de atingir o seu peso final, P1 e P2 com, respectivamente, 10,08 e 5,15g em peso, com rendimento de extrato etanólico de 8 e 5,3 %.

### Determinação do teor de Fenóis Totais (FT) pelo método de Folin-Ciocalteu

Através do método de Folin-Ciocalteu, calculou-se o resultado da atividade antioxidante das amostras estudadas, por meio da interpolação das médias das absorvâncias da *A. squamosa*, utilizando a Equação (1), contra a curva de calibração do ácido gálico com coeficiente de correlação 0,995, conforme apresenta o gráfico da Figura 1. Sendo os resultados expressos em termos de Equivalentes de Ácido Gálico (EAG) por g de extrato, conforme apresenta a Tabela 1.

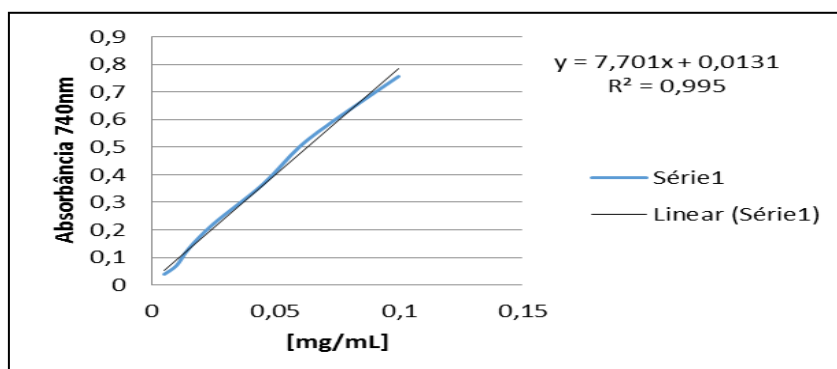


Figura 1- Figura 16- Curva padrão do ácido gálico.

Fonte: Dados do autor.

Tabela 1. Teor de fenóis totais nas amostras.

| AMOSTRA | FT (MG EAG/G DE EXTRATO ± DP)* |
|---------|--------------------------------|
| PINHA 1 | 1584,94±78,16                  |
| PINHA 2 | 866,42±37,99                   |

Fonte: Dados do autor. \*Valores expressos como média ± desvio padrão.

De acordo com a Tabela 1, foi possível observar que os resultados expressos para o extrato etanólico da espécie estudada apresentam consideráveis teores de compostos



fenólicos. Vale ressaltar que, a amostra Pinha 1 se sobressai quando em comparação da Pinha 2, apresentando o resultado mais elevado de 1584,94 mg EAG/g de extrato.

As amostras vegetais da *A. squamosa* demonstraram teor de fenóis totais (FT) superiores aos relatados por Sousa et al (2007), no qual fez um estudo de cinco plantas medicinais: *Trithrinax brasiliensis*(casca e folha), *C. Macrophyllum* (folh)a, *T. fagifolia* (folha), *Q. grandiflora* (folha), *C. prurifera* (raiz), dentre as quais as que tiveram um maior resultado foi a espécie *Trithrinax brasiliensis* (*T.brasiliensis*), que expressou em sua amostra de casca um teor de fenóis totais de 763,63 EAG/g e na amostra de folha 667,90 mg EAG/g. Já em um estudo realizado por Rabêlo (2014), com o extrato etanólico do talo da atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.), foi obtido um resultado de 207,80 mg EAG/g.

Com os resultados obtidos para amostras vegetais da *A. squamosa*, Tabela 1, percebe-se que os compostos fenólicos totais como os presentes nas amostras de Pinha 1 e Pinha 2, impedem a ação de radicais livres no organismo, uma vez que protegem moléculas como o DNA, podendo vir a abortar alguns processos carcinogênicos (Sousa et al., 2007).

Levando em consideração as amostras realizadas nesse trabalho dos fenóis totais em a comparação com os trabalhos de Sousa et al. (2007) e de Rabêlo (2014), principalmente a *T.brasiliensis* (folha), haja vista que as partes estudadas nesse trabalho são as aéreas, observa-se a superioridade da *A. squamosa*. A comparação desses resultados pode ser verificada na Tabela 2.

Tabela 2 - Comparação do teor de compostos fenólicos totais da espécie *A. squamosa* em relação com outras espécies.

| <b>AMOSTAS</b>                 | <b>Rendimento do extrato ETOH (%)</b> | <b>FT (mg EAG/g de extrato ± DP)*</b> | <b>Resultados Expressos por:</b> |
|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| Pinha 1                        | 8%                                    | 1584,94±78,16                         | Dados do autor                   |
| Pinha 2                        | 5,3%                                  | 866,42±37,99                          | Dados do autor                   |
| <i>T. brasiliensis</i> (casca) | 6,0                                   | 763,63 ± 13,03                        | Sousa et al (2007)               |
| <i>T. brasiliensis</i> (folha) | 5,8                                   | 667,90 ± 10,92                        | Sousa et al (2007)               |
| Atemoia                        | ---                                   | 207,80 ± 7,21                         | Vieira et. Al (2014)             |

\*Valores expressos como média ± desvio padrão.

Vale ressaltar que as disparidades nos valores de teores dos compostos fenólicos podem ser influenciadas por diversos fatores, tais como: maturação, espécie, práticas de

cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento das frutas (SOARES et al., 2008).

### Doseamento dos flavonoides

Para realização da quantificação de flavonoides totais nas amostras em questão, utilizou-se a equação da reta, Equação (2), determinada através da curva padrão da quercetina que apresentou coeficiente de correlação 0,9993, conforme apresenta o gráfico da Figura 2. Através da curva calibração da quercetina obteve-se os resultados expressos em mg EQ/g de extrato, expressos na Tabela 3.

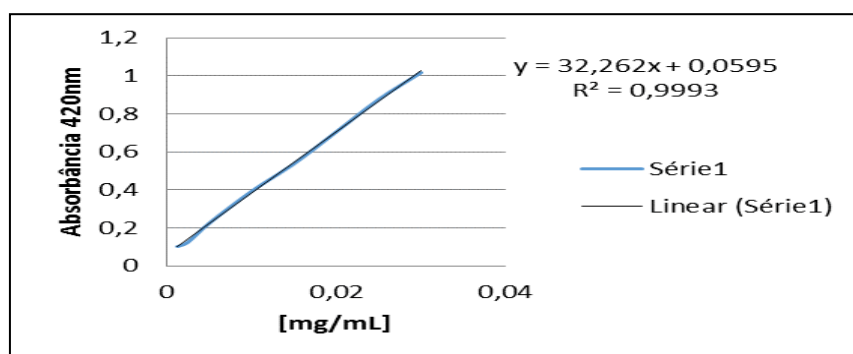


Figura 2- Curva de calibração da Quercetina.

Fonte: Dados do autor

De acordo com os resultados expressos na Tabela 6, para doseamento de flavonoides, as amostras apresentaram proximidade nos resultados. Ainda assim, verifica-se que esses foram menores quando comparados com o doseamento em outras espécies (Tabela 4).

Tabela 3 - Resultados da quantificação de Flavonóides da *A. squamosa*.

| <i>Amostra</i> | <i>Teor de flavonoides totais (mg EQ/g de extrato ± DP)*</i> |
|----------------|--|
| Pinha 1        | 33,07±2,46   |
| Pinha 2        | 31,22±3,49   |

Fonte: Dados do Autor. \*Valores expressos como média ± desvio padrão.

Segundo Flambó (2013), os flavonoides têm sido cada vez mais alvo da pesquisa científica. Este fato se deve aos relatos de suas propriedades benéficas à saúde, como

agente antiinflamatório, estrogênico, inibidor enzimático, antimicrobiano, antialérgico, antitumoral, entre outras. No entanto, a atividade antioxidante continua sendo o atributo mais investigado dos flavonóides, haja vista que a característica antioxidante desses compostos pode estar envolvida em outras atividades biológicas relacionadas à prevenção do estresse oxidativo.

Mazepa (2014) efetuou um estudo com diferentes extratos (casca seca, semente e folha) da *Annona x atemoya Mabb*, onde foi obtido um melhor resultado na amostra da folha com 154,63 mg EQ/g de extrato. Santi et al. (2014) determinaram o conteúdo total de flavonoides em extratos das folhas de *Cordia verbenácea*, encontrando no extrato etanólico bruto o valor de 65,03 mg EQ/g de extrato. Em comparação com estes estudos, verifica-se um valor menor para amostras da *A. squamosa*, conforme é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Comparação do teor de flavonóides totais da da espécie *A. squamosa* em relação com outras espécies.

| AMOSTRA                                 | Teor de flavonoides totais<br>mg EQ/g de extrato | Resultados Expressos por: |
|---|--|---------------------------|
| <b>Pinha 1</b>                          | 33,07  | Dados do autor            |
| <b>Pinha 2</b>                          | 31,22  | Dados do autor            |
| <b><i>Annona x atemoya<br/>Mabb</i></b> | 154,63   | Mazepa (2014)             |
| <b><i>C. verbenácea</i></b>             | 65,03  | Santi et al. (2014)       |

### Avaliação quantitativa da atividade antioxidante através da captura do DPPH

De acordo com a capacidade das amostras estudadas de sequestrarem o radical livre DPPH, foram obtidos resultados nas concentrações de 1-100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e de 1,5-200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , respectivamente, para as amostras de Pinha 1 e Pinha 2. Assim, verifica-se que os extratos etanólicos da *A. squamosa*, de acordo com a metodologia utilizada, apresentaram resultados positivos para atividade antioxidante.

A atividade antioxidante dos extratos foi analisada de acordo com os valores de  $\text{CE}_{50}$ , os quais valores mais baixos indicam alta atividade antioxidante. Para avaliar o teor de antioxidante dos extratos etanólicos das partes aéreas da *A. squamosa*, um percentual antioxidante das amostras foi obtido, assim para cada concentração da amostra foi adquirido valores de absorção por radical livre (Figuras 3 e 4).

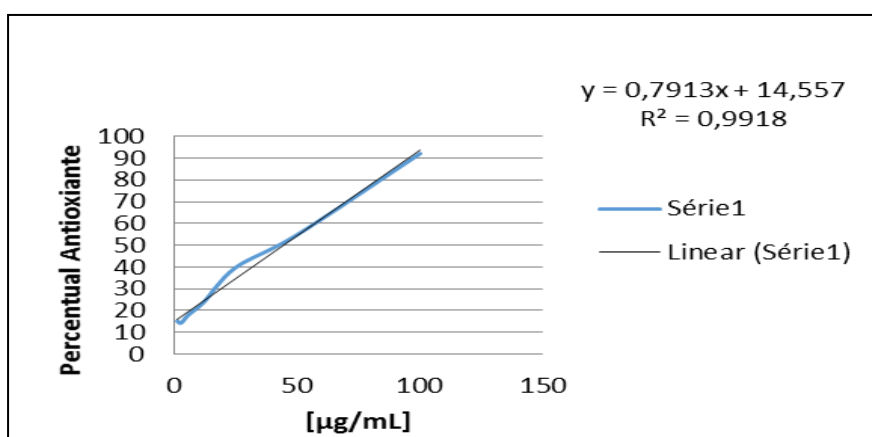


Figura 3 - Percentual de Atividade Antioxidante da *A. squamosa* (Pinha1)

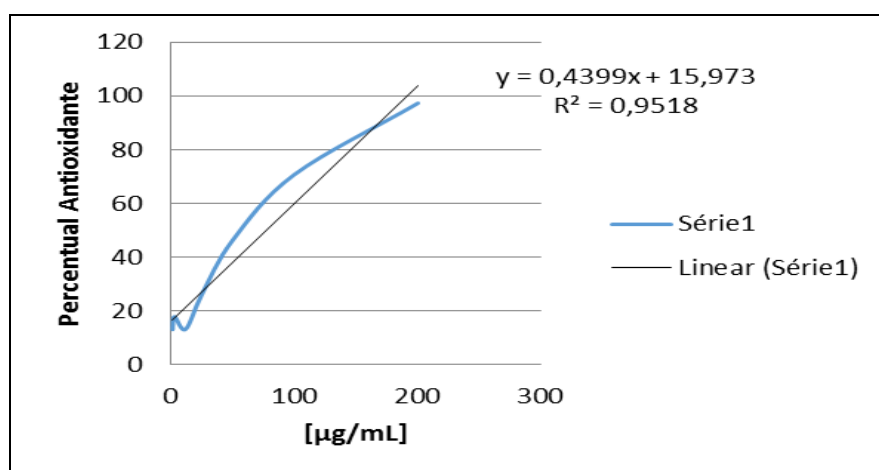


Figura 4 - Percentual de Atividade Antioxidante da *A. squamosa* (P2)

Fonte: Dados da Pesquisa

De acordo com os gráficos apresentados nas Figuras 3 e 4, Pinha e 2, as amostras apresentaram atividade antioxidante por intermédio da captura do DPPH. Perante a avaliação do sequestro deste radical foi alcançado o resultado do percentual de atividade antioxidante (AAO%), dado pela Equação (3), das amostras estudadas como mostrado nos gráficos das Figuras 3 e 4. Estes demonstram que o percentual antioxidante aumenta proporcionalmente com a concentração de extrato adicionado, atingindo o valor de AAO% 92,17 e 97,17 de atividade antioxidante para as concentrações, respectivamente, de 100 e 200 µg/ml para os extratos da pinha 1 e pinha 2.

Os resultados obtidos foram superiores quando comparado ao do óleo essencial de folhas espécie de *Ocotea odorifera* que apresentou na concentração de 100 µg/ml o valor de AAO% 63,53, resultado este já descrito na literatura (Cansian et al., 2010).

## Correlação da Atividade Antioxidante com Teor de Fenóis Totais

A Tabela 5 apresenta os resultados da correlação da atividade antioxidante com o teor de fenóis totais das amostras da *Annona squamosa*.

Tabela 5 - Correlação da atividade antioxidante com o teor de fenóis totais das amostras da *Annona squamosa*.

| AMOSTRA | CE <sub>50</sub> * | TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS* |
|---------|--------------------|------------------------------|
| PINHA 1 | 44,79 ± 0,58       | 1584,94 ± 78,16              |
| PINHA 2 | 79,13 ± 3,32       | 866,42 ± 37,99               |

Fonte: Dados da pesquisa. \*Valores expressos como média ± desvio padrão.

De acordo com a Tabela 5, os resultados obtidos neste trabalho afirmam que a matriz que possui valor mais elevado de fenóis totais e menor CE<sub>50</sub> foi apresentada na amostra Pinha 1.

## Atividade antioxidante pelo método ABTS

Através da obtenção da curva padrão de Trolox, calculada por meio da Equação (5), foi possível realizar o teste ABTS, cujos resultados estão expressos no gráfico da Figura 5, apresentam a equação da reta e um coeficiente de correlação 0,9949.

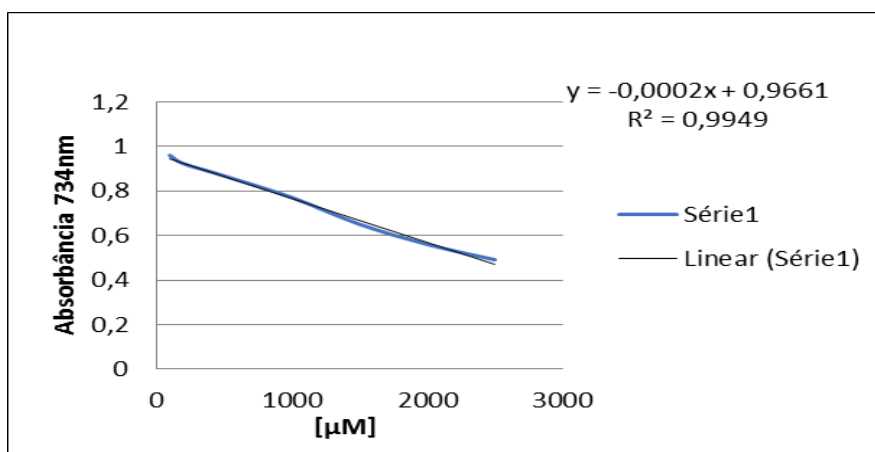


Figura 5- Curva do padrão Trolox para o ensaio de ABTS

Fonte: dados do autor.

Os resultados obtidos pela espécie *A. squamosa*, em comparação com o trabalho de Soares et al (2007), no teste antioxidante ABTS são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6- Resultados da atividade antioxidante da *Annona squamosa* em comparação com a da Niágara Rosada a partir do método ABTS.

| AMOSTRA        | μM TROLOX/G DE EXTRATO* | RESULTADOS EXPRESSOS POR: |
|----------------|-------------------------|---------------------------|
| PINHA 1        | 258,23±16,33            | Dados do autor            |
| PINHA 2        | 219,56±4,98             | Dados do autor            |
| NIÁGARA ROSADA | 157,31±8,15             | Soares et al (2007)       |

Fonte: Dados do autor. \*Valores expressos como média ± desvio padrão.

Entre as duas amostras que foram submetidas ao teste, a amostra Pinha 1 obteve o melhor resultando de atividade antioxidante. Em comparação com outro trabalho no qual foi utilizado o mesmo teste e com a espécie *Vitis labrusca L. x Vitis vinifera L.* (Niágara Rosada), observa-se que a espécie *Annona squamosa L.* apresenta melhor atividade antioxidante, nesse método a Niágara obteve o resultado de 157,31 μM Trolox/g de extrato.

### Atividade antioxidante total pelo método de Redução do Ferro – FRAP

A partir da curva padrão de Trolox, calculada através da Equação (6), foi possível obter a equação da reta e uma curva com coeficiente de correlação de 0,9901, de acordo com o gráfico da Figura 6.

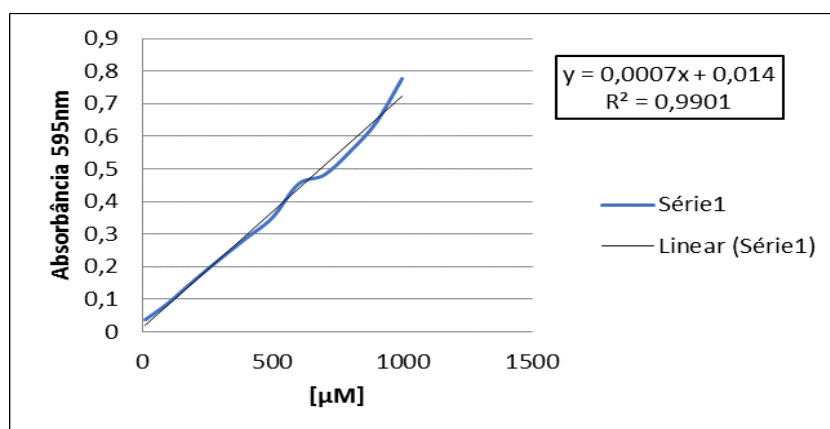


Figura 6- Curva de calibração Trolox para o teste FRAP.

Fonte: Dados da pesquisa

Logo após a obtenção da curva de padrão Trolox, foram calculados os resultados da redução dos íons ferro da *Annona squamosa* L. pelo teste FRAP, conforme observado na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados da redução dos íons ferro da *Annona squamosa* pelo teste FRAP.

| <b>AMOSTRA</b> | <b><math>\mu\text{M Trolox/g de extrato} \pm \text{DV}^*</math></b> |
|----------------|---|
| Pinha 1        | 1464,38±26,58   |
| Pinha 2        | 362,99±71,71  |

Fonte: Dados do autor. \*Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

A partir dos resultados adquiridos pelo método FRAP foi possível constatar que ambas amostras estudadas possuem um significativo potencial antioxidante, porém a amostra Pinha 1 se sobressai por possui um maior valor antioxidativo.

Outras espécies em outros trabalhos da literatura também foram submetidas ao teste FRAP. Em uma pesquisa realizada por Carvalho (2013), a espécie *Myrciaria jaboticaba* (*M. jaboticaba*) foi submetida ao teste FRAP com os diferentes solventes: água, ETOH e MeOH/Acetona, os resultados obtidos foram respectivamente 205, 625, 671,196 e 814,684  $\mu\text{M Trolox}$ . Rockenbach (2008) utilizou para seu estudo extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*), das variedades Tannat e Ancelota, cujo poder redutor obtidos pelo método FRAP foram de 746,7 e 686,4  $\mu\text{Mol Trolox}$  em solvente acetona a 70% (v/v) para as variedades Ancelota e Tannat, respectivamente. Vale ressaltar, que os valores da redução dos íons ferro pode ser influenciados pelos diferentes solventes empregados.

Ao confrontar os resultados da *A. squamosa* com as espécies de Carvalho (2013) e Rockenbach (2008), pode-se observar conforme a Tabela 8 que a espécie *A. squamosa* para Pinha 1 apresenta melhor resultado, o que comprova mais uma vez sua melhor atividade antioxidante.

Tabela 8 - Comparação entre a atividade antioxidante pelo método FRAP da espécie *A. squamosa* com outras espécies.

| <b>AMOSTRA</b>       | <b><math>\mu\text{M Trolox/g de extrato}</math></b> | <b>Resultados Expressos por:</b> |
|----------------------|---|----------------------------------|
| Pinha 1              | 1464,38±26,58                                       | Dados do autor                   |
| <i>M. jaboticaba</i> | 814,684± 21,671                                     | Carvalho (2013)                  |
| Ancelota             | 746,7 $\pm$ 1,3                                     | Rockenbach (2008)                |
| Tannat               | 686,4 $\pm$ 3,7                                     | Rockenbach (2008)                |

## Identificação dos constituintes químicos das matrizes da *Annona squamosa* L.

Através do teste fitoquímico foi visível a presença de alguns constituintes químicos nas amostras Pinha 1 e 2, ou seja, compostos fenólicos nas amostras da *Annona squamosa* L., identificados pela mudança de cor e formação de espuma, respectivamente. Durante as análises dos testes fitoquímicos para Pinha 1 e 2, foram encontrados os principais compostos fenólicos, que são: taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis e xantonas, catequinas, flavononas, esteroides e também a presença de saponinas.

## CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi possível verificar que a espécie *Annona squamosa* L., coletada em duas áreas distintas, apresentam melhor atividade antioxidante, que pode ser justificada por seu alto potencial biológico. Haja vista, que demonstraram teor de fenóis totais (FT) superiores quando comparadas a outras amostras relatadas nos trabalhos de Sousa et al (2007) e Vieira et. al (2014). É importante observar, que a amostra Pinha 1 se sobressaiu em comparação da Pinha 2 para esse teste. De acordo com a metodologia empregada, verificou-se que o valor obtido para a atividade antioxidante através do método de sequestro do radical ABTS, das duas matrizes da *A. squamosa*, mostrou-se superior ao obtido para o radical DPPH.

Pode-se afirmar ainda que, nesse estudo, houve uma relação direta entre o conteúdo de fenólicos totais e a capacidade antioxidante das amostras analisadas. Portanto, com base nos resultados apresentados e comparação com outras espécies encontradas literatura, verifica-se que a espécie *A. squamosa* L. apresenta-se como uma forte candidata a fonte natural de compostos secundários e atividade antioxidante, sendo uma grande contribuinte para a indústria farmacológica. Conclui-se ainda que em todos os testes realizados, a amostra coletada no município de Estrela de Alagoas (Pinha 1) apresentou resultado superior a amostra Pinha 2.



## REFERÊNCIAS

1. ASSIS, M.A; MORELLI-AMARAL, V.F; PIMENTA, F. Grupos de pesquisa e sua produção científica sobre plantas medicinais: um estudo exploratório no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Fitos*, Vol. 9, n. 1, p. 1-72, 2015.
2. BONIL, L.N; BUENO, S.M. Plantas medicinais: Benefício e malefícios. 2014. Disponível em: < <http://unilago.edu.br/revista-medicina/artigo/2017/10-plantas-medicinais-beneficios-e-maleficios.pdf>>. Acessado em 01 de agosto de 2018.
3. CAMPOS, M.T.G.C; LEME, F.O.P. Estresse oxidativo: fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial. **Rev. Pubvet**, v.12, n.1, a10, p.1-8, Jan., 2018. Disponível em: < <http://www.pubvet.com.br/uploads/b6549d41cf307ea6ef99fec75354f20f.pdf>>. Acessado em 01 de agosto de 2018.
4. CARVALHO, G.G. “Propriedades antioxidantes e sensoriais de barras de cereais convencionais e light adicionadas de casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)”. **Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestra em Alimentos e Nutrição**. Campina, 2013.
5. CANSIAN, R.L; MOSSI, A.J; PAROUL, N; TONIAZZO, G; ZBORALSKI, F.; PRICHOA, F. C. KUBIAK, G. B.; LERIN, L. A; Antioxidant and antimicrobial activity of cinnamon sassafras extracts (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rowher). **Rev. PERSPECTIVA**, v.34, n.127, p. 123-133, 2010. Disponível em: < [http://www.uricer.edu.br/site/pdfs/perspectiva/127\\_129.pdf](http://www.uricer.edu.br/site/pdfs/perspectiva/127_129.pdf)>. Acessado em 01 de agosto de 2018.
6. CAVALCANTE, L.C.D; BARROS, E.D.S; ARAÚJO, P.B.M; BRANDÃO, M.S; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Rev. Quim. Nova**, Vol. 30, No. 2, 351-355, 2007. Disponível em: < [http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2\\_351\\_20-AR06044.pdf](http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2_351_20-AR06044.pdf)>. Acessado em 01 de agosto de 2018.
7. FLAMBÓ, D.F.A.L.P. **Atividades biológicas dos flavonoides: Atividade antimicrobiana**. p. 1-53. 2013. Disponível em:

- <<https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3979/1/Projeto%20final.pdf>>.  
Acessado em 01 de agosto de 2018.
8. FREIRE, C.J; BARBOSA, L.R.S; COSTA, J.G; SANTOS, R.G.A; SANTOS, A.F. Fitoterapia em pediatria: a produção de saberes e práticas na Atenção Básica. **Rev. Brasileira de Enfermagem**, p. 682-90, n.71, 2018.
  9. GADELHA, C.S; JUNIOR, V.M.P; BEZERRA, K.K.S; MANIÇOBA, B.B; MARACAJÁ, P.P.B. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. **Rev. Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 8, n. 5, p. 208 – 212, 2013.
  10. LEMOS, E.E.P. **A produção de anonáceas no Brasil**. v. 36, p. 077-085, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v36nspe1/v36nspe1a09.pdf>>. Acessado em 01 de agosto de 2018.
  11. LOIZZO, M. R. et al. Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, p. 179-184, 2012.
  12. MAZEPA, L. Análise do perfil físico-químico, atividade antioxidante e atividades biológicas da espécie vegetal *Annona x atemoya* Mabb. **Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em segurança alimentar e nutricional, área de concentração: qualidade dos alimentos e nutrição, do departamento de nutrição, setor de ciências da saúde da universidade federal do paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em segurança alimentar e nutricional**. Curitiba, 2014.
  13. RABÊLO, S.V. Revisão de alcaloides do gênero *annona*, estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*). **Dissertação apresentada à Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido, para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais**, Petrolina, 2014.
  14. REIS, C. N. et al. Inibição da produção de óxido nítrico e efeito citotóxico de extrato aquoso de *annona muricata* L. **Perspectivas Online, Rev.Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 2, p. 1-8, 2011.

15. SANTI, M.M; SANCHES, F.S; SILVA, J.F.M, SANTOS, P.M.L. Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea* DC. por HPLC-DAD. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.2, p.256-261, 2014. Disponível em: <  
<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n2/14.pdf>>. Acessado em 04 de agosto de 2018.
16. SOUZA, F.T.C; RABELÔ, T.C.B; SANTOS, L.K.F; SANTOS, E.R.; SILVA, J.C. **Prospecção científica e tecnológica referente à pinha (*Annona squamosa* L.)**. Cad. Prospec., v. 8, n. 4, p. 817-827, out./dez. 2015.
17. SOARES, M; WELTER, L; KUSKOSKI, E.M; GONZAGA, L; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.** vol.30 n.1, 2008. Disponível em: <  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452008000100013](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452008000100013)>. Acessado em 01 de agosto de 2018.
18. SOUZA, R.D; NUNES, C.R; PEREIRA, S.M.F; OLIVEIRA, OLIVEIRA, R.R; OLIVEIRA, D.B.O. Atividade antioxidante, teor de taninos, fenóis, ácido ascórbico e açúcares em *Cereus fernambucensis*. 2017. Disponível em: <  
[https://www.researchgate.net/publication/282203412\\_Antioxidant\\_activity\\_and\\_content\\_of\\_tannins\\_phenols\\_ascorbic\\_acid\\_and\\_sugar\\_in\\_Cereus\\_fernambucensis](https://www.researchgate.net/publication/282203412_Antioxidant_activity_and_content_of_tannins_phenols_ascorbic_acid_and_sugar_in_Cereus_fernambucensis)>. Acessado em 01 de agosto de 2018.
19. SOUSA, C.M.M, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Rev. Quím. Nova**, vol.30 no.2 São Paulo Mar./Apr. 2007.
20. ROCKENBACH, I.I; SILVA, G.L; RODRIGUES, E; KUSKOSKI, R.F. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Rev.Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol.28, n.1, 2008.