

# *Atividade antioxidante e o teor de taninos e fenóis totais dos frutos de *Annona muricata* L.*

*Antioxidant activity and the content of tannins and phenolic fruit of *Annona muricata* L.*

Clara dos Reis Nunes<sup>\*</sup>  
 Natalia Ribeiro Bernardes<sup>\*</sup>  
 Lorena de Lima Glória<sup>\*\*</sup>  
 João Batista Barbosa<sup>\*\*\*</sup>  
 Silvia Menezes de Faria Pereira<sup>\*\*\*\*</sup>  
 Daniela Barros de Oliveira<sup>\*\*\*\*</sup>

A *Annona muricata* L. (graviola) destaca-se na economia de frutos tropicais que integram a flora da região de Campos dos Goytacazes - RJ. O consumo de frutas está associado à redução do risco de doenças relacionadas com os elevados níveis de estresse oxidativo. Antioxidantes diminuem esse estresse, minimizam a incidência dessas doenças, contribuindo para a saúde e a graviola é uma fonte natural de antioxidantes. Sendo assim, neste trabalho foram avaliados os teores de taninos e fenóis totais, levando-se em consideração sua atividade antioxidante.

*The *Annona muricata* L. (soursop) excels in the tropical fruit economy in the region of Campos dos Goytacazes, RJ. The consumption of fruit is associated with reduced risk of diseases related to high levels of oxidative stress. Antioxidants reduce this stress by minimizing the incidence of diseases, contributing to the health. Soursop is a natural source of antioxidants. Therefore, this study evaluated the levels of total phenols and tannins in soursop taking into account the antioxidant activity.*

Palavras-chave: *Annona muricata* L. Antioxidante. Compostos Fenólicos. DPPH.

Keyword: *Annona muricata* L. Antioxidant. Phenolic Compounds. DPPH.

## **Introdução**

O Brasil tem se sobressaído como um respeitável produtor e consumidor de frutas, e a *Annona muricata* L. é empregada, principalmente, na indústria de polpas alimentícias para refrescos, geleias, doces e sorvetes. A literatura etnofarmacológica registra vários usos medicinais baseados no senso comum, que lhe atribui várias

<sup>\*</sup> Doutoranda em Produção Vegetal com ênfase em Química de Alimentos na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF – Campos dos Goytacazes/RJ - Brasil

<sup>\*\*</sup> Mestre em Produção Vegetal com ênfase em Química de Alimentos na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro UENF - Campos dos Goytacazes/RJ - Brasil

<sup>\*\*\*</sup> Professor da Universidade Estácio de Sá. Doutorando em Produção Vegetal com área de concentração em Tecnologia de Alimentos na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF – Campos dos Goytacazes/RJ - Brasil

<sup>\*\*\*\*</sup> Doutora em Engenharia e Ciência dos Materiais pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (2002). Atualmente é Técnico de Nível Superior do LTA/CCTA /UENF e Professora de Bromatologia e Físico-química do Curso de Farmácia da Faculdade de Medicina de Campos – Campos dos Goytacazes/RJ - Brasil

<sup>\*\*\*\*</sup> Doutora em Química de Produtos Naturais pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2005). Atualmente é professor associado da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF – Campos dos Goytacazes/RJ - Brasil

propriedades, embora a eficácia e a segurança de suas preparações não tenham sido todas, ainda, comprovadas cientificamente (REIS, 2011; PEREIRA et al., 2004).

A espécie *Annona muricata* L. pertence à família Annonaceae e ao gênero *Annona*. É também conhecida como graviola, guanabara, araticum, coração-de-rainha, frutudo-conde, jaca-do-pará, pinha, entre outros. Os frutos são do tipo baga com polpa mucilaginosa e levemente ácida. Originária da América tropical, principalmente das Antilhas e da América Central, é muito cultivada nos países de clima tropical, inclusive no Brasil (VIEIRA, 2010; CORRÊA, 1984).

Estudos químicos com a *A. muricata* conduziram ao isolamento de compostos de diversas classes, tais como acetogeninas, alcaloides, terpenoides, carboidratos, polifenóis, lipídeos e aminoácidos, e algumas dessas substâncias estão associadas ao sequestro dos radicais livres formados nos processos degenerativos (VILA-NOVA et al., 2013; ANGELO et al., 2007). Todavia, nos últimos anos, as pesquisas fitoquímicas acerca desta espécie se dirigiram ao isolamento de compostos da classe das acetogeninas, principalmente a partir das folhas (RIBEIRO et al., 2010; LUNA, 2006).

Como a oxidação é um evento metabólico que leva à geração da energia necessária para as atividades essenciais das células, o metabolismo do oxigênio nas células também leva à produção de radicais livres que podem provocar danos extensivos (ADEGOKE et al., 1998). O estresse oxidativo tem sido relacionado ao desenvolvimento de várias doenças crônicas como, por exemplo, o câncer, doenças cardíacas e doenças degenerativas, como Alzheimer, assim como ao processo inflamatório e ao envelhecimento (LOIZZO et al., 2012; ROESLER et al., 2007; SHAMI E MOREIRA, 2004).

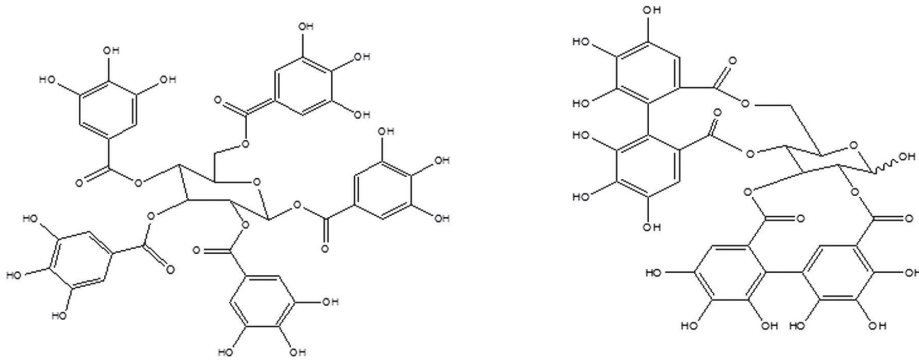
Pesquisas clínicas e epidemiológicas têm evidenciado que antioxidantes fenólicos de frutas, cereais e vegetais são os principais fatores que contribuem para redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas encontradas em populações cujas dietas são altas na ingestão desses alimentos (LOIZZO et al., 2012; PARK et al., 2011). Assim, a ênfase em estudos por antioxidantes naturais tem crescido muito nos últimos anos. Substâncias que possuem atividade antioxidante incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos bem como flavonoides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido ascórbico, pigmentos, taninos e esteróis (BERNARDES et al., 2010).

Os compostos fenólicos compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana e apresentam características anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, antitrombóticas, antivirais, antimicrobianas, vasodilatadoras, imunomodulatórias e analgésicas. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os ácidos fenólicos, fenóis simples, flavonoides, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis, os quais possuem atividade antioxidante comprovada (ANGELO et al., 2007).

Os taninos são classificados em dois grupos principais, cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora todos tenham molécula poli-hidroxifenóis ou seus derivados. Os pertencentes ao primeiro grupo são denominados taninos hidrolisáveis e incluem

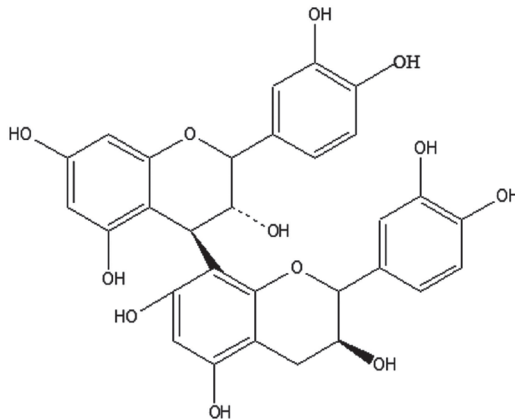
os galotaninos e os elagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico, como exemplifica a Figura 1 (REIS, 2011; DEGÁSPARI et al., 2004).

**Figura 1: Estruturas de Taninos Hidrolisáveis: Galotanino e Elagitanino**



Os constituintes do segundo grupo são denominados taninos condensados e são encontrados em maiores proporções e com maior importância nos alimentos. Exibem uma estrutura similar aos flavonoides, com coloração variando do vermelho ao marrom, conforme exemplifica a Figura 2. Em baixas concentrações em frutos, os taninos conferem-lhes características sensoriais desejáveis. Todavia, em concentrações mais elevadas, conferem aos frutos e outros alimentos características adstringentes (DEGÁSPARI et al., 2004).

**Figura 2: Estrutura de tanino condensado.**



Os taninos possuem um forte potencial antioxidante, detendo a capacidade de atuar no processo de estabilização de radicais livres (PAIVA et al., 2002). Desta forma, o presente trabalho objetiva avaliar os teores de taninos hidrolisáveis e condensados e fenóis totais, e estabelecer uma possível correlação entre essas substâncias e a atividade antioxidante.

## ***Materiais e métodos***

### *Coleta do Material Vegetal*

O material vegetal foi coletado no Município de Bom Jesus do Itabapoana - RJ no período de frutificação, que corresponde aos meses de dezembro a fevereiro. Os espécimes foram depositados sob o código H5488 no Herbário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

### *Preparo do Extrato Aquoso*

Para o preparo do extrato aquoso, os frutos de *Annona muricata L.* foram limpos, lavados com água destilada e separadas as suas partes (casca, semente e polpa). A polpa dos frutos foi submetida à extração com água na proporção de 75% (p/v) originando o extrato aquoso (GS). Uma parte foi submetida à precipitação com etanol (1:1) e, em seguida, foi realizada uma extração líquido-líquido a partir do sobrenadante (GSS) com solventes em ordem crescente de polaridade, originando-se as seguintes frações: hexano (FH), acetato de etila (FACeT) e butanol (FB).

### *Análise Antioxidante*

#### *Método do DPPH*

O extrato aquoso (GS) e as frações obtidas (GSS, FH, FACeT, FB) constituíram as amostras submetidas à avaliação quanto à atividade antioxidante pelo método fotolorimétrico do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH – 0,1mM). Esse método consiste na adição de 1 mL do extrato em concentrações que variam de 0,1 - 1000 µg/mL, em 1 mL de uma solução metanólica de DPPH (0,1 mM), sendo a reação processada em 1h à temperatura ambiente. Imediatamente, a absorção do DPPH foi verificada em 515 nm em um espectrofotômetro UV-Vis. A atividade sequestrante de radicais livres de cada amostra foi expressa pela relação da absorção de DPPH, baseado na solução de DPPH ausente do extrato (controle negativo) e uma solução de um padrão de substância aromática (controle positivo), o 2,6-di-(tert-butil)-4-metilfenol (BHT). Após, o percentual sequestrador (PS%) de radicais livres foi calculado (KOLEVA et al., 2002). A capacidade de sequestrar radicais livres foi expressa como percentual de inibição da oxidação do radical e foi calculada mediante a seguinte fórmula (YEN e DUH, 1994):

$$\% \text{ de inibição} = ((ADPPH - A_{\text{Extr}})/ADPPH) * 100$$

Onde ADPPH é a absorbância da solução de DPPH e A<sub>Extr</sub> é a absorbância da amostra em solução.

#### *Método de Redução do Ferro (FRAP)*

Pesaram-se 2 mg de amostra (GS e GSS) e dos padrões fenólicos (rutina, quercetina e apigenina), os quais foram solubilizados com 500µL de metanol a 50% e 500µL de acetona a 70%. O reagente FRAP foi obtido a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 µL das amostras e padrões diluídos para tubos de ensaio, acrescentaram-se 270 µL de água destilada com 2,7 mL do reagente FRAP e manteve-se o banho-maria a 37 °C. A leitura foi feita a 595 nm após 30 minutos da mistura preparada, utilizando-se o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro. Uma curva padrão foi feita com o Trolox entre 50µM e 1500µM e os resultados expressos em µM Trolox/mg de amostra.

#### *Extração para Avaliação de Compostos Fenólicos*

Para a avaliação dos compostos fenólicos, as amostras GS e GSS (500mg) foram submetidas à extração com acetona/água (7:3) e as porções foram unidas e avolumadas para 25 mL.

#### *Determinação do Teor de Taninos*

##### *Taninos Hidrolisáveis*

Na determinação de taninos hidrolisáveis, uma alíquota de 1 mL da amostra (GS e GSS) foi hidrolisada com 5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e aquecida em banho-maria a 95°C por 24 horas. Após esse processo, resfriada e avolumada para 10 mL, reagiu com solução de rodanina (C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>NOS<sub>2</sub>) e hidróxido de potássio (KOH). As amostras foram analisadas em triplicata e as positivas desenvolveram coloração vermelho-rósea. A leitura de absorbância foi feita a 520 nm depois de 5 a 10 minutos (MOREIRA, 2000) e os resultados foram expressos em percentagem.

##### *Taninos Condensados*

Para os taninos condensados, em 1 mL de amostra (GS e GSS) adicionou-se uma

solução de butanol (BuOH) em ácido clorídrico (HCl) e aqueceu-se em banho-maria a 95°C por 2 horas. As amostras positivas desenvolveram coloração vermelha ou violeta e a absorbância das amostras foi feita a 540 nm após 5 a 10 minutos (MOREIRA, 2000). Os resultados foram expressos em percentagem.

### *Determinação de Fenóis Totais*

Para o teor de fenóis totais usou-se o método de Folin-Denis, método que envolve a redução do reagente pelos compostos fenólicos das amostras com concomitante formação de um complexo azul (MOREIRA, 2000; SWAIN e HILLIS, 1959). Adicionou-se 0,5 mL do reagente de Folin-Denis a 0,5 mL da amostra (GS e GSS) e 3 mL de água destilada. Após 1 hora, 1 mL da solução saturada de carbonato de cálcio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) foi adicionado. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 760nm e os resultados foram expressos em mg/mL. A quantidade total de fenóis de cada extrato foi quantificada por meio de uma curva padrão preparada com ácido tânico.

### *Análise Estatística*

Os experimentos foram feitos em triplicata (n = 3) e os resultados apresentados à média de três experimentos distintos.

### *Equipamentos*

O espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu Mini 1240 foi o equipamento usado para os experimentos.

## ***Resultados e discussão***

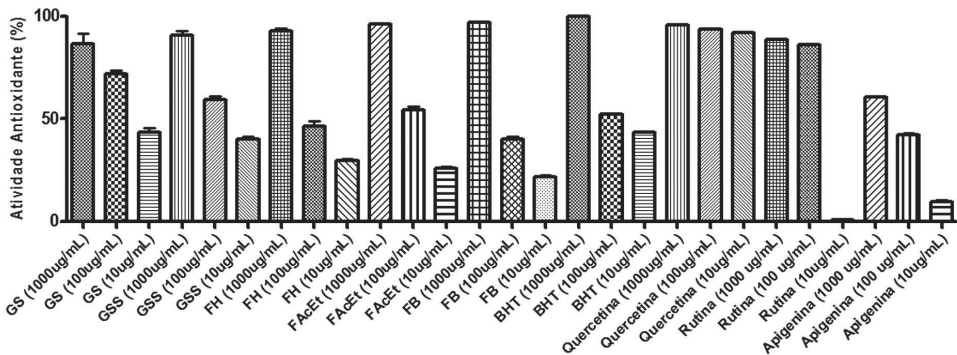
### *Atividade Antioxidante*

A capacidade de sequestrar radicais livres em relação ao radical estável 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) foi inicialmente escolhida por se tratar de uma metodologia simples, rápida e sensível (FROZZA et al., 2013). As substâncias antioxidantes presentes nos extratos reagem com o DPPH, que é um radical estável, e convertem-no em 2,2-difenil-1-picril hidrazina. O grau de descoloração indica o potencial antioxidante do extrato. As amostras foram avaliadas em concentrações de 1000 a 10 µg/ml, como mostra a Figura 3. Vale ressaltar que os testes foram realizados em triplicata e em três

concentrações distintas, sendo apresentadas aqui as médias aritméticas e o desvio padrão.

Os padrões empregados foram os flavonoides quercetina, rutina e apigenina (por serem os mais comumente encontrados nos alimentos) e o padrão comercial de estrutura fenólica, BHT (Butil-hidroxi-tolueno), o qual é amplamente empregado na indústria alimentícia. Os flavonoides foram utilizados como padrões pelo seu efeito protetor nos sistemas biológicos, o qual é conferido à sua capacidade de transferência de elétrons dos radicais livres (REIS, 2011; HEIM, 2002).

**Figura 3: Atividade antioxidante das amostras, dos padrões fenólicos e do BHT (Média  $\pm$  Desvio Padrão) (n=3)**



Pode-se observar que as amostras apresentam atividade sequestradora de radicais livres nas três concentrações avaliadas (1000, 100 e 10 µg/mL).

Os percentuais de ação antioxidante mostraram-se bastante expressivos para todas as amostras na concentração de 1000mg/mL e, na concentração de 100mg/mL, GS (71,7%  $\pm$  2,7) e GSS (59,3%  $\pm$  3,2), apresentaram atividade sequestrante de radicais livres muito próxima do padrão comercial BHT (52,1%  $\pm$  2,2), fato que evidencia a ação antioxidante das amostras. Em relação às frações oriundas da partição líquido-líquido realizada, a FACeT na concentração de 100mg/mL foi a única que apresentou um percentual de sequestro (54,2%  $\pm$  3,2) também muito próximo ao BHT.

Nas demais frações (FH e FB), os percentuais de ação antioxidante não se apresentaram tão expressivos em relação ao BHT, permanecendo abaixo do percentual exibido por este padrão.

Quando se compara o extrato aquoso, o sobrenadante e as frações com o padrão quercetina observa-se que apenas a FACeT e FB na concentração de 1000µg/mL é superior a esse padrão, nas demais concentrações, o percentual de sequestro é inferior aos valores encontrados para a quercetina.

Em comparação ao flavonoide rutina, o extrato aquoso e as FH e FACeT (1000µg/mL) apresentaram atividade antioxidante superior. Já na concentração de 10 µg/mL todas as amostras exibiram um potencial de sequestro de radicais livres superior ao rutina. Na

concentração de 100µg/mL para todas as amostras o percentual é inferior a esse flavonoide.

Quando se observa o potencial antioxidante das amostras em comparação à apigenina, um outro flavonoide empregado como padrão, nota-se que apenas a FB na concentração de 100µg/mL apresentou atividade antioxidante inferior a esse flavonoide.

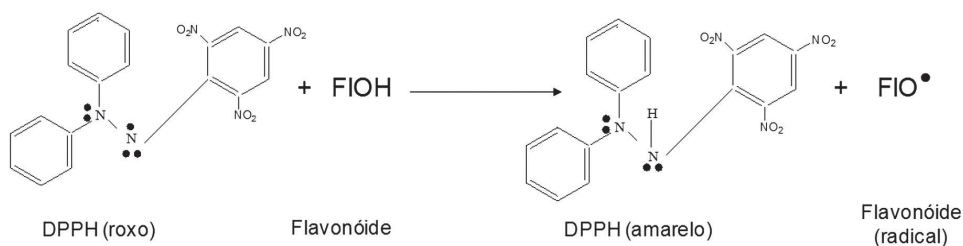
Mediante esses resultados, é possível constatar o potencial antioxidante exibido pelas amostras e comparar a atividade sequestrante de radicais livres com o padrão BHT, bem como com os padrões fenólicos (rutina, quercetina e apigenina).

Segundo Ross e Kasum (2002), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é determinada pela sua estrutura, especialmente pela facilidade com que um átomo de hidrogênio, a partir de uma hidroxila do anel aromático, pode ser doado a um radical livre. Além disso, o potencial antioxidante também está relacionado com a polaridade, a natureza e a posição dos grupos constituintes na estrutura dos compostos fenólicos (FABRI, 2008).

O padrão comercial BHT é um antioxidante mais efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais do que em óleos vegetais e por isso pode ter apresentado atividade antioxidante na concentração de 1000 µg/mL e 100 µg/mL, devido a sua pouca polaridade. Como na maior parte dos antioxidantes fenólicos, sua eficiência é limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes (RAMALHO e JORGE, 2006).

Baskar et al. (2007) observaram também um percentual de atividade antioxidante a partir das folhas de *A. muricata* de 90,05% . Para uma outra espécie deste gênero (*A. reticulata*), esses mesmos autores verificaram o sequestro de radicais livres a partir do extrato das folhas de 89,37%, também pelo método do DPPH. Este método é simples, rápido e sensível, sendo amplamente empregado para a análise da atividade antioxidante. As substâncias antioxidantes presentes nas amostras reagem com o DPPH, que é um radical estável, e convertem-no em 2,2-difenil-1-picril-hidrazina. Assim, quando uma solução de DPPH é misturada com uma substância que pode doar um átomo de hidrogênio, a forma reduzida do radical gerado é acompanhada da perda de cor (ALI et al., 2009; AMIÉ et al., 2003). Dessa forma, o grau de descoloração indica o potencial antioxidante do extrato (Figura 4).

**Figura 4: Representação da reação do radical DPPH com um antioxidante (Flavonoide)**





Pelo método de redução do ferro (FRAP) também se evidenciou a atividade antioxidante (Tabela 1). Quando se compara o extrato aquoso com os padrões fenólicos observa-se que o percentual de sequestro de radicais livres é inferior aos valores encontrados para a quercetina e rutina. Já em relação à apigenina, o extrato aquoso apresentou um potencial antioxidante superior, enquanto o sobrenadante possui uma atividade antioxidante inferior a esse padrão.

**Tabela 1: Atividade antioxidante pelo método do FRAP em comparação com os padrões fenólicos quercetina, rutina, apigenina (Média ± Desvio Padrão) (n=3)**

<b>Amostras</b>	<b>[ ] μM Trolox/mg de amostra</b>
GS	613,348 ± 13,5
GSS	256,227 ± 10,9
Quercetina	1108,896 ± 3,5
Rutina	1046,396 ± 1,4
Apigenina	304,458 ± 6,2

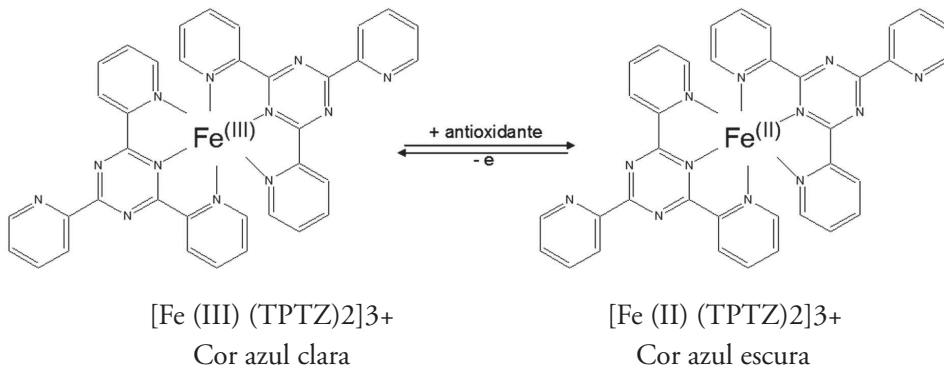
A literatura relata outros trabalhos que também verificaram a atividade antioxidante da polpa de *A. muricata* L. (MÁRQUEZ, 2009; RODRÍGUEZ et al., 2007; GUNAWARDENA e SILVA, 2006) pelo método do FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) – Poder Antioxidante de Redução do Ferro, como pode ser observado na Tabela 2. É necessário lembrar que existem diferentes formas de se expressar o teor de atividade antioxidante para este método (GORDILLO et al., 2012).

**Tabela 2: Atividade antioxidante pelo método do FRAP**

<b>Autores</b>	<b>Teores</b>
MARQUEZ, 2009	400 μmol/100 g
RODRÍGUEZ, et al., 2007	1.34 mmoles Fe <sup>2+</sup> /L
GUNAWARDENA e SILVA, 2006	503±11 μmol/L/g

O método do FRAP pode ser aplicado a estudos da atividade antioxidante em extratos de alimentos e bebidas, bem como ao estudo da eficiência antioxidante de substâncias puras, com resultados comparáveis àqueles obtidos com outras metodologias mais complexas (Figura 5). Porém, é uma metodologia mais limitante que o DPPH (RUFINO et al., 2006).

Figura 5: Representação da reação do FRAP que mostra a redução do complexo férrico-tripiridiltrizina (FeIII-TPZ) em complexo ferroso (FeII-TPZ) em meio ácido



A partir de uma análise crítica entre os métodos (DPPH e FRAP), é possível observar algumas vantagens e desvantagens (Tabela 3). Nesse contexto, vale a pena salientar que, devido aos diversos tipos de radicais e aos diferentes sítios de ação, dificilmente haverá um único método capaz de representar totalmente a atividade antioxidante de uma substância (SUCUPIRA et al., 2012).

**Tabela 3:** Comparação entre as vantagens e desvantagens dos métodos DPPH e FRAP (Salvador, 2011; Koleva et al., 2002)

Métodos	Vantagens	Desvantagens
DPPH	Muito rápido, sensível, simples, reprodutível, utiliza reagentes comuns, independe da polaridade das amostras e dispensa tratamento prévio das amostras.	Não especifica a espécie sequestradora de radicais livres, impossibilita a avaliação da atividade de antioxidante em hidrofílicos.
FRAP	Aplicável em amostras de alimentos, bebidas e também no estudo da eficiência de substâncias puras. Simples e rápido, não requer equipamentos sofisticados.	Exige sistema aquoso e não detecta compostos que agem por meio da doação de átomos de hidrogênio.

Partindo do princípio de que a atividade antioxidante relaciona-se principalmente aos flavonoides, bem como aos ácidos fenólicos e aos taninos (ROESLER et al., 2007), avaliou-se também o teor desses últimos. Foram quantificados os teores de taninos gálicos, taninos condensados e fenóis totais.

### ***Determinação do Teor de Taninos***

Os taninos são substâncias provenientes do metabolismo secundário de fontes vegetais e estão presentes na maioria das plantas. Todavia, sua concentração nos tecidos

vegetais pode variar, dependendo da idade, do tamanho da planta, da parte coletada, da época ou, ainda, do local de coleta (MONTEIRO et al., 2005).

A presença de taninos na composição química vegetal muitas vezes está relacionada à ação biológica descrita para uma espécie, sendo que a distribuição maciça de taninos está restrita a alguns táxons, o que faz com que a planta apresente uma grande produção de representantes dessa classe química em detrimento de outros metabólitos (LUNA, 2006).

Os taninos condensados possuem um padrão de distribuição muito amplo, são encontrados em diversas famílias de angiospermas como nas Annonaceae (PAIVA et al., 2002). A Tabela 4 mostra os teores de taninos condensados e hidrolisáveis nas amostras oriundas da polpa dos frutos.

**Tabela 4: Dados obtidos a partir da análise do teor de taninos condensados e hidrolisáveis da polpa da *Annona muricata* L.**

Amostras	Taninos Condensados (%)	Taninos Hidrolisáveis (%)
GS	0,34	—
GSS	—	—

De acordo com esses resultados, pode-se observar que os teores de taninos condensados concentram-se no extrato aquoso e não são detectados teores de taninos hidrolisáveis.

Segundo Degáspari et al. (2005), a presença em baixas concentrações de taninos nos frutos confere-lhes características sensoriais desejáveis. Todavia, teores elevados conferem aos frutos e a outros alimentos características adstringentes. Essa sensação de adstringência é provocada pela propriedade que os taninos possuem de precipitar proteínas, assim, quando em contato com as proteínas da saliva, formam um complexo insolúvel que popularmente se caracteriza pela sensação adstringente.

Castro et al. (1984), estudando o conteúdo de taninos na graviola, observaram variações pequenas, ao comparar frutos verdes e maduros, e quantificaram os teores de taninos de 0,25 e 0,22%, respectivamente. Já o teor de taninos catéquicos e esteroides livres em extratos metanólicos de *A. muricata* foi de 0,65% (LIMA et al., 2006). Vale ressaltar que um fator responsável pelos níveis de concentração pode ser a metodologia de extração, já que esse fator pode limitar a observação do conteúdo fenólico das plantas.

Alguns estudos mostram decréscimo no teor de taninos da graviola durante o amadurecimento até atingir cerca de 0,08% (LIMA et al., 2002; AZIZ e YUSOF, 1994). Oliveira et al. (1994), no entanto, verificaram conteúdo de fenólicos totais iguais a 0,87%.

Os resultados obtidos neste trabalho exibem um valor considerável no teor de taninos presentes no extrato aquoso da graviola quando comparados com os resultados relatados pela literatura quanto ao caju, por exemplo, que, segundo a literatura, possui alto teor de taninos, o que lhe confere a sensação de sabor adstringente, no qual se observa uma variação de 0,21 a 0,88% dependendo do seu estágio de maturação, da variedade e da região de cultivo (MENEZES e ALVES,1995). Gomes et al. (2012) também detectaram um valor próximo de taninos no caju (0,22%), resultados que corroboram os apresentados por Rufino et al. (2010) e Michodjehoun-Mestre et al. (2009).

### ***Determinação do Teor de Fenóis***

O método de Folin-Denis permite quantificar flavonoides, antocianinas e compostos fenólicos presentes nas amostras (MOREIRA, 2000; OLIVEIRA et al., 1994) A Tabela 5 demonstra a quantidade total de fenóis dos extratos.

Foram observados valores muito próximos de fenóis totais tanto para GS quanto para GSS a partir da polpa de *A. muricata* neste trabalho.

**Tabela 5: Dados obtidos do conteúdo de fenóis totais nas amostras oriundas da polpa dos frutos de gravioleira**

<b>Amostras</b>	<b>Fenóis Totais (%)</b>
Extrato Aquoso (GS)	0,36
Sobrenadante (GSS)	0,32

Segundo Ferelli (2006), a determinação do conteúdo fenólico total do extrato das folhas de graviola na fração acetato de etila apresentou 0,143 mg/mL de compostos fenólicos, o que representa cerca de 0,014%, resultado inferior, portanto, aos encontrados para o extrato aquoso e o sobrenadante apresentados neste trabalho.

Hassimotto et al. (2005), usando metanol a 70% como solvente extrator, relatam valores de fenólicos totais de 120mg.100g<sup>-1</sup> para polpa de graviola, enquanto Kuskoski et al. (2006) citam o teor de 84,3 mg.100g<sup>-1</sup> de fenólicos totais em polpas de graviola que foram diluídas em água (1:2,5).

Akiwa e Rooney (2004) relatam que algumas espécies podem apresentar uma forte associação entre a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico. Desta forma, observa-se uma possível relação entre a concentração de fenóis totais e a capacidade de sequestrar radicais livres das amostras, visto que as amostras que apresentam maior

conteúdo fenólico são justamente as que exibem maior atividade antioxidante (Tabela 6). Esses resultados corroboram outros trabalhos em que a atividade antioxidante foi relacionada também com o teor de taninos (LIMA et al., 2006; MOURE et al., 2001).

**Tabela 6: Comparação entre os valores de atividade antioxidante, fenóis totais e taninos condensados**

Amostras	Atividade Antioxidante (%)*	Fenóis Totais (%)	Taninos condensados (%)
Extrato Aquoso (GS)	91,2	0,36	0,34
Sobrenadante (GSS)	88,2	0,32	0

\* Valores obtidos para atividade antioxidante na concentração de 1000 µg/mL pelo método DPPH.

Os relatos na literatura evidenciam que a relação entre fenóis totais e atividade antioxidante é controversa. Alguns autores observaram uma alta relação (BENVENUTI et al., 2004; MOURE et al., 2001; JIMENEZ et al., 2000; KAHKONEN et al., 1999), enquanto outros não observaram relação direta (EBERHARDT et al., 2001; IMEH et al., 2002). Estudos apontam que a relação entre a capacidade antioxidante e o teor de fenóis totais pode estar sujeita ao método selecionado e também às características hidrofóbicas ou hidrofílicas do sistema teste e dos antioxidantes avaliados (ROESLER et al., 2007). Além disto, outras moléculas podem estar agindo em sinergismo com os compostos fenólicos, o que certamente ocasiona uma alta concentração da atividade sequestradora de radicais livres.

## ***Conclusões***

Este estudo relata a quantificação de taninos e fenóis totais a partir da polpa dos frutos da graviola enfocando a atividade antioxidante pelos métodos do DPPH e FRAP, os quais são os mais aceitos e comumente empregados na indústria de alimentos. Pelos resultados obtidos, conclui-se que as amostras possuem boa capacidade de sequestrar radicais livres, ou seja, boa atividade antioxidante, evidenciada por ambos os métodos. Além disso, foi possível verificar que os teores de taninos condensados concentram-se no extrato aquoso, o que também ocorre com a concentração de fenóis totais, fato que indica uma possível relação entre a atividade antioxidante e o conteúdo fenólico da polpa dos frutos de graviola. Os teores de taninos hidrolisáveis não foram detectados na polpa dos frutos de gravioleira. Outro fator que deve ser levado em consideração é que a graviola se destaca na economia de frutos tropicais. Sendo assim, um estudo químico mais aprofundado, certamente propiciará estímulo à sua comercialização.

## *Agradecimentos*

FAPERJ, UENF e CNPq.

## *Referências*

- ADEGOKE, G. O.; KUMAR, M. N.; GOPALAKRISHNA, A. G.; VARDARAJ, M. C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B. R. Antioxidants and lipid oxidation in food – a critical appraisal. *J. Food Sci. Technol.*, v. 35, p. 283-298, 1998.
- ALI, S. S., KASOJU, N., LUTHRA, A., SINGH, A., SHARANABASAVA, H., SAHU, A., BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, v. 41, p. 1-15, 2009.
- AMIÉ, D.; DAVIDOVIÉ-AMIÉ, D.; BESLO, D.; TRINAJSTIÉ, N. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, v.76, n. 1, p. 55-61, 2003.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- AZIZ, P. A.; YUSOF, S. Physico-chemical characteristics of soursop fruit (*Annona muricata*) during growth and development. *ASEAN Food Journal*, New York, v. 9, n. 4, p. 147-150, 1994.
- BASKAR, R.; RAJESWARI, V.; KUMAR, T. S. In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 45, n. 5, p. 480-485, 2007.
- BENVENUTI, S.; PELLATI, F.; MELEGARI, M.; BERTELLI, D. Polypehols, Anthocyanins, Ascorbic Acid, and Radical Scavenging Activity of *Rubus*, *Ribes* and *Aronia*. *Food Chemistry and Toxicology*, v. 69, n. 3, p. 164-169, 2004.
- BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, D. B. Alimentos Funcionais: Uma breve revisão. *Ciência e Cultura - Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário da FEB*, v. 6, n. 2, p. 11-19, nov. 2010.
- CASTRO, F. A.; MAIA, G. A.; HOLANDA, F. F.; GUEDES, Z. B. L.; FÉ, J. de A. M. Características físicas e químicas da graviola. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 19, n. 3, p. 361-365, 1984.
- CORRÊA, M. P. *Dicionário de plantas medicinais do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de desenvolvimento Florestal, v. 6, n. 3, p. 646. Graviola do Norte, 1984.
- DEGÁSPARI, C.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 33-40, 2004.
- DEGÁSPARI, C. H., WASZCZYNSKYJ, N., PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Ciências agrotécnica*. v. 29, p. 617-622, 2005.
- EBERHARDT, M. V.; LIU, R. H.; SMITH, N. L.; LEE, C. Y. Antioxidant activity of

- various apple cultivars. Abstract of papers of The American Chemical Society. *American Chemical Society*: Washington, DC, v. 221, part 1, 118-AGFD. 2001.
- FABRI, R. L. *Estudo fitoquímico de Mitracarpus frigidus (Willd. ex Reem Schult.) K. Schum. Biomonitorado pela atividade antimicrobiana e avaliação das atividades citotóxica, leishmanicida e antioxidante*. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, 2008. 148 p.
- FERELLI, C.; DEDALO, M. F. N. Avaliação da Capacidade Antioxidante dos Extratos de Graviola (*Annona Muricata*) e Suas Frações. In: MOSTRA ACADÊMICA DA UNIMEP, 4ª, 2006, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba, 2006.
- FROZZA, C. O. S.; GARCIA, C. S. C.; GAMBATO, G.; SOUZA, M. D. O.; SALVADOR, M.; MOURA, S.; PADILHA, F. F.; SEIXAS, F. K.; COLLARES, T.; BORSUK, S.; DELLAGOSTIN, O. A.; HENRIQUES, J. A. P.; ROESCH-ELY, M. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red própolis. *Food and Chemical Toxicology*, v. 52, p. 137-142, 2013.
- GUNAWARDENA, H. P.; SILVA, K. D.. Determination of total antioxidant capacity and vitamin C content of selected local under-utilized and commonly consumed fresh fruits. *Food e Nutrition Symposium*, v. 4, n. 4, 2006.
- GOMES, M. J. N.; KADER, Y. N. A. M.; ELLENSOHN, M. R.; CUNHA, M. E. T.; BARIN, C. S. Análise físico-química de suco de caju concentrado. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 8, n. 15, 2012.
- GORDILLO, J. C.; ORTIZ, D.; LARRAHONDO, J. E.; SÁNCHEZ MEJÍA, M.; PACHÓN, H. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v. 11, n. 2, p. 111-126, 2012.
- HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *J. Agric. Food Chem.*, v. 53, n. 8, p. 2928-2935, 2005.
- HEIM, K. E. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal Nutrition Biochemistry*, v. 13, p. 572-584, 2002.
- IMEH, U.; KHOKBAR, S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 22, p. 6301-6306, 2002.
- JIMENEZ, E. A. ; RINCÓN, M.; PULIDO, R. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 11, p. 5489-5493, 2000.
- KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAYA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.
- KOLEVA, L. I., VAN BEEK, T. A., LINSSEN, J. P. H., GROOT, A., EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three

testing methods. *Phytochemical Analysis*, v.13, p. 8-17, 2002.

KUSKOSKI, E. A. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciênc. Rural*, v. 36, n. 4, p.1285-1286, 2006.

LIMA, K. S. B.; LIMA, Y. C.; SOUSA, T. S.; BERTINI, L. M.; MORAIS, S. M. Atividade Antioxidante de Plantas e Sua Relação com o Teor de Taninos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 46., 2006, Salvador. *Anais...* Salvador: Universidade Estadual do Ceará, 2006.

LIMA, M. A. C.; ALVES, R. E. A.; FILGUEIRAS, H. A. C. Avaliação da Qualidade e da Suscetibilidade ao Escurecimento Oxidativo de Graviola (*Annona muricata* L.) Durante a Maturação Pós-Colheita. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.*, v. 46, p. 23-26, 2002.

LOIZZO, M. R.; TUNDIS, R.; BONESI, M.; MENICHINI, F.; MASTELLONE, V.; AVALLONE, L.; MENICHINI, F. 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.

LUNA, J. S. *Estudo de Plantas Bioativas*. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, 2006. 254 p.

MÁRQUEZ, C. J. *Caracterización fisiológica, físico-química, reológica, nutracéutica, estructural y sensorial de la guanábana (Annona muricata L. cv. Elita)*. Tese (Mestrado) - Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Colombia, 2009.

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. *Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju*. Fortaleza : EMBRAPACNPAT, 1995. 20p.

MICHODJEHOUN-MESTRE, L., SOUQUET, J. M., FULCRAND, H., BOUCHUT, C., REYNES, M., BRILLOUET, J. M., Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry, Barking*, v. 112, n. 4, p. 851-857, 2009.

MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P., ARAUJO, E. L., AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova*, v. 28, p. 892-896, 2005.

MOREIRA, D. L. *Métodos de análise e dosagem de taninos condensados, taninos gálicos e fenóis totais*. Rio de Janeiro, Apostila NPPN-UFRJ, 2000.

MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMÍNGUEZ, J. M., SINEIRO, J. DOMÍNGUEZ, H., NÚÑEZ, M. J., PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, v. 72, p. 145-171, 2001.

OLIVEIRA, S. L. de; GUERRA, N. B.; MACIEL, M. I. S.; LIVERA, A.V. S. Polyphenoloxidase activity, polyphenols concentration and browning intensity during sour sop (*Annona muricata*, L.) maturation. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 59, n. 4, p. 1050-1052, 1994.

PAIVA, S. R.; HERINGER, A. P.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C. Taninos condensados de espécies de Plumbaginaceae, *Floresta e Ambiente*, v. 9, n. 1, p. 153-157, 2002.

PARK, Y. S., LEONTOWICZ, H., LEONTOWICZ, M., NAMIESNIK, J.,



SUHAJ, M., CVIKROVA, M., MARTINCOVA, O., WEISZ, M., GORINSTEIN, S. Comparison of the content of bioactive compounds and the level of antioxidant activity in different kiwi fruit cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, DOI:10.1016/j.jfca.2010.08.010, 2011.

PEREIRA, R. C.; OLIVEIRA, M. T. R.; LEMOS, G. C. S. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes - RJ. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, v. 14, n. 01, p. 40-44, 2004.

RAMALHO, V. C., JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, p. 755-760, 2006.

REIS, C. N. *Annona muricata*: análise química e biológica dos frutos de gravioleira. Rio de Janeiro, Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2011. 150p.

RIBEIRO, R. I. M.; KURIBAYASHI, J. S.; BORGES JÚNIOR, P. C.; BELETTI, M. E.; ESPINDOLA, F. S.; CASSALI, G. D.; LOYOLA, A. M. Inibição de metaloproteínas por extratos aquosos de Aloe vera, Annona muricata e chá preto. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 26, p. 121-127, jan./fev. 2010.

ROSS, J. A., KASUM, C. M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition.*, v. 22, p. 19-34, 2002.

RODRÍGUEZ, J.; VALDÉS, O.; QUERIS, O. Actividad antioxidante de vinos elaborados con frutas tropicales. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, v. 17, p. 66-68, 2007.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, jan./mar. 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). *Comunicado técnico EMPRAPA*, Fortaleza, CE, Dezembro, 2006.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-CALIXTO, F., MANCINI-FILHO, J., Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, Barking, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SALVADOR, I. *Atividade antioxidante e teor de resveratrol em cacaos, chocolates, achocolatados em pó e bebidas lácteas achocolatadas*. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, 2001. , 91p

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

SWAIN, T., HILLIS, W. E. The phenolics constituents of prumus domestica: the

quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric.* v. 10, p. 63-68, 1959.

VIEIRA, G. H. F.; MOURÃO, J. A.; ÂNGELO, A. M.; COSTA, R. A.; VIEIRA, R. H. S. F. Antibacterial effect (in vitro) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against gram positive and gram negative bacteria. *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, v. 52, n. 3, p. 129-132, maio/jun., 2010.

VILA-NOVA, N. S.; MORAIS, S. M.; FALCÃO, M. J. C.; ALCÂNTARA, T. T. N.; FERREIRA, P. A. T.; CAVALCANTI, E. S. B.; VIEIRA, I. G. P.; CAMPELLO, C. C.; WILSON, M. Different susceptibilities of *Leishmania* spp. promastigotes to the *Annona muricata* acetogenins annonacinone and corosolone, and the *Platymiscium floribundum* coumarin scoparone, *Experimental Parasitology*, v. 133, p. 334-338, 2013.

YEN, G. C.; DUH, P. D. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *J. Agric. Food Chem.*, v. 42, n. 3, p. 629-632, 1994.

*Artigo recebido em: 15 maio 2013*  
*Aceito para publicação em: 2 nov. 2013*