

Rendimento e triagem fitoquímica do extrato aquoso da casca de *Annona squamosa* Linn

Yield and phytochemical screening of the peel aqueous extract of *Annona squamosa* Linn

João Ricardhis Saturnino de Oliveira ¹, Bianka Santana dos Santos ², Ana Paula Sant'Anna da Silva ¹, Vera Lúcia de Menezes Lima ^{1*}

¹Universidade Federal de Pernambuco, campus de Recife, PE, Brasil.

²Universidade Federal de Pernambuco, campus de Caruaru, PE, Brasil.

*lima.vera.ufpe@gmail.com

RESUMO

Annona squamosa é uma planta frutífera de interesse gastronômico, com grande possibilidade de bioprospecção. Partes da planta são utilizadas pela medicina popular para o tratamento de diversas enfermidades e estudos já comprovam muitas de suas atividades, como antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e anti-inflamatória. Este estudo objetivou avaliar o conteúdo fitoquímico do extrato aquoso da casca do fruto. Amostras foram adquiridas de comércio local durante o primeiro período de safra do ano, por três anos consecutivos. O extrato foi obtido a partir de amostras desidratadas e pulverizadas e a triagem fitoquímica seguiu as especificações para cada classe química. O rendimento médio do extrato aquoso foi de 36,6%, variando entre 35,3% e 38,1%. Não houve diferença significativa no rendimento do extrato aquoso ao longo dos três anos analisados. A triagem indicou a presença de carboidratos e diversos derivados fenólicos. Esse extrato aquoso de *Annona squamosa* mostrou constância quanto ao rendimento e seu perfil fitoquímico apresenta vasta quantidade de substâncias de interesse biotecnológico.

Palavras-chave: Carboidratos. Compostos fenólicos. Metabólitos secundários. Pinha.

ABSTRACT

Annona squamosa is a fruit plant of gastronomic interest, with great potential for bioprospecting. Parts of the plant are used by folk medicine for the treatment of various diseases, and studies have already proven many of its activities, such as antioxidant, antimicrobial, antitumor and anti-inflammatory. This study aimed to evaluate the phytochemical content of the aqueous extract of the fruit peel. Samples were acquired from local stores during the first harvest period of the year, for three consecutive years. The extract was performed with dehydrated and pulverized samples and the phytochemical screening followed the specifications for each chemical class. The average yield of the aqueous extract was 36.6%, ranging from 35.3% to 38.1%. There was no significant difference in the yield of the aqueous extract over the three years analyzed. The screening indicated the presence of carbohydrate and several phenolic compounds. The aqueous extract of *Annona squamosa* showed consistency in terms of yield and its phytochemical profile presents a vast number of compounds of biotechnological interest.

Keywords: Carbohydrates. Phenolic compounds. Pinecone. Secondary metabolites.

INTRODUÇÃO

Os nomes populares da *Annona squamosa* no Brasil são “ata”, “fruta-do-conde” ou “pinha” (Cordeiro, Pinto & Ramos, 2000). Esta é uma planta frutífera tropical bem distribuída no mundo por possuir boa adaptação e agradar o paladar de diversas culturas (Quílez, Fernández-Arche, García-Giménez & Puerta, 2018). Isso decorre pelo fato de a planta possuir um fruto de polpa carnosa e extremamente doce, que auxilia no preparo de sorvetes e doces, além de ser utilizada na preparação de sucos ou consumida in natura (Kill & Costa, 2003).

Além das possibilidades gastronômicas, a planta possui diversos efeitos farmacológicos e alto potencial biotecnológico (Ma, Y. Chen, J. Chen, Li & Chen, 2017). Estudos etnofarmacológicos descrevem a utilização das raízes, sementes, frutos e folhas no tratamento de diversas enfermidades (Quílez et al., 2018), como em investigações que comprovam o potencial antioxidante e antimicrobiano das folhas (Kalidindi et al., 2015), o antioxidante (Vikas, Akhil, Remani & Sujathan, 2017) e o antitumoral das sementes (Chen et al., 2012), mas também a ação imunomoduladora e antioxidante da polpa (Tu et al., 2016), decorrente da rica constituição química da planta (Ma et al., 2017).

Espécies do gênero *Annona* possuem vários metabólitos secundários, dentre eles os compostos fenólicos são a grande maioria (Quílez et al., 2018). No que concerne às principais classes de metabólitos, já foram descritos alcaloides, taninos, terpenos e flavonoides (Ma et al., 2017). Todos bem detalhados na literatura como agentes de interesse biotecnológico (Sreenivasulu & Fernie, 2022).

Embora haja indícios de seu potencial para bioprospecção, pouco se sabe sobre as possibilidades da casca do fruto de *Annona squamosa*. Sendo assim, este estudo objetivou avaliar o rendimento do extrato aquoso da casca da pinha, bem como a investigação de possíveis agentes biotecnológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos e preparação da casca

Pinhas produzidas em Petrolina, PE, foram adquiridas de comerciante local no Centro de Abastecimento de Alimentos de Pernambuco (CEASA-PE). Este estudo tem cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o cadastro A58E095. Frutos foram rapidamente lavados, as suas polpas, removidas. As cascas foram cortadas e condicionadas em uma estufa com exaustor, a 30°C, até secagem completa. Na sequência, foram trituradas em liquidificador comercial.

Extrato aquoso e rendimento

O extrato aquoso foi obtido a partir da adição de 100 g de pó de casca de pinha em 1 L de água destilada, garantindo a proporção de 1:10 (soluto/solvente). O material foi colocado sob agitação durante 8 horas e, então, filtrado e submetido à secagem por liofilização. Para investigar a reprodutibilidade, foram realizadas extrações de três amostras adquiridas em tempos diferentes (fevereiro de 2018, fevereiro de 2019 e fevereiro de 2020), cada tempo contou com três extrações, para averiguação da média de rendimento. O rendimento foi embasado no cálculo: peso do extrato aquoso após liofilização/peso do pó da casca de pinha utilizado para a extração x 100.

Investigação da presença de compostos fenólicos

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso foi tratada com 10 gotas de cloreto férrico 5% em água destilada (p/v) e a presença de compostos fenólicos foi confirmada com a formação de uma coloração azul escura ou preta (Kloss, Albino, Souza & Lima, 2016).

Investigação da presença de alcaloides

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 5 gotas de reagente de Wagner (1,27 g de iodina + 2 g de iodeto de potássio em 100 mL de água destilada). A confirmação de alcaloides se deu pela formação de um precipitado marrom avermelhado (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de carboidratos

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 1 mL de α -naftol. Foram adicionados lentamente pela parede do tubo 500 μ L de ácido sulfúrico. A presença de carboidratos foi confirmada pela formação de um anel violeta entre as duas fases líquidas (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de desoxiaçúcares

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 2 mL de ácido acético glacial (PA). A seguir, foram adicionadas 5 gotas de cloreto férrico. Posteriormente, foi acrescido 1 mL de ácido sulfúrico pela parede do tubo e a formação de um anel marrom entre as fases líquidas indicou a presença de desoxiaçúcares (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de flavonoides

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 2 mL de hidróxido de sódio 20%. A presença de flavonoides foi comprovada com a mudança de coloração para um amarelo intenso, que se transforma em transparente quando adicionado 2 mL de ácido clorídrico (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de oxalatos

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 1 mL de ácido acético glacial. A presença de oxalato se deu pela formação de uma coloração verde escura a preta (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de quinonas

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 1 mL de ácido clorídrico. A formação de um precipitado amarelo indicou a presença de quinonas (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de saponinas

Foram adicionados 2 mL de extrato aquoso a um tubo de ensaio longo contendo 6 mL de água destilada. O tubo foi agitado vigorosamente por 1 min e a persistência de uma camada de espuma indicou a presença de saponinas (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de esteroides e triterpenos

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 10 gotas de clorofórmio. A seguir, foram adicionadas 10 gotas de anidrido acético e, posteriormente, outras 10 gotas de ácido sulfúrico. A

formação imediata de uma coloração vermelha ou rosa na fase orgânica indicou a presença de grupos esteroides e triterpenos (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de taninos

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 1 mL de cloreto de férrico 10% em solução alcoólica. A formação de um precipitado azul ou verde escuro confirmou a presença de taninos (Kloss et al., 2016).

Investigação da presença de terpenos

Uma porção de 5 mL do extrato aquoso recebeu 1 mL de clorofórmio e 500 μ L de ácido sulfúrico. A formação de um precipitado castanho constata a presença de terpenoides (Kloss et al., 2016).

Análise estatística

Os dados de rendimento foram apresentados em média e em desvio padrão, submetidos à análise de variância unidirecional, seguida de teste de Tukey para analisar diferença estatística entre os rendimentos dos extratos. O teste foi conduzido no software GraphPad Prism 8,0 (GraphPad, EUA) e a significância foi considerada se $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de extração resultou em respostas similares em todas as realizações. O extrato aquoso de *Annona squamosa* é um líquido castanho dourado (Figura 1) que se torna um pó marrom-amarelado após liofilização.

O rendimento das extrações apresentou leve variância entre as amostras, porém não houve diferença estatística em nenhuma das amostras avaliadas (Tabela 1), com uma média de 36,6 % de rendimento. Isto indica a possibilidade da manutenção da produção de extrato, caso a extração seja mantida periodicamente.

Vale salientar que as amostras são oriundas de mesma época, primeira safra do ano, o que não descarta a possibilidade de variação no rendimento em outras épocas do ano, principalmente em frutos colhidas no período entressafra.

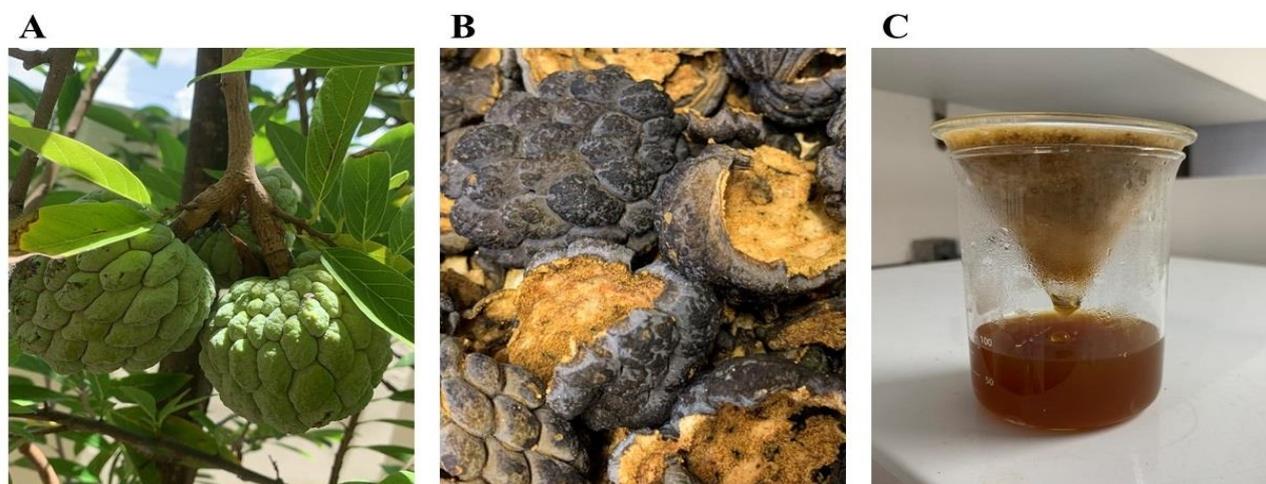


Figura 1. Fruto da *Annona squamosa* e extrato aquoso de sua casca.

Fonte: Os autores.

Notas: a) frutos de pinha; b) cascas do fruto de pinha desidratadas; c) extrato aquoso da casca do fruto de pinha sendo filtrado.

Extratos aquosos de outras plantas também mostraram rendimento similar aos da pinha. A maioria dos extratos aquosos brutos apresentam rendimento por volta de 40%. Especificamente, os extratos aquosos das folhas de *Annona muricata* e *Annona cherimola* apresentam 28% e 9%, respectivamente (Aguilar-Villalva et al., 2021). Outros extratos vegetais aquosos, como os de flores de *Calendula officinalis*, *Helianthus annuus* e *Rosa x grandiflora* obtiveram rendimento de 38%, de 58% e de 42%, respectivamente (Franzen et al., 2018), já o extrato aquoso bruto de folhas de cajueiro rendeu 18,7% (Costa, Teles, Oliveira, Oliveira & Mouchrek, 2021).

Tabela 1
Rendimento do extrato aquoso da casca do fruto da pinha

Amostra	2018	2019	2020
Rendimento (%)	36,4 ± 3,5	38,1 ± 2,9	35,3 ± 3,8

Fonte: Os autores.

Nota: Dados apresentados em média ± desvio padrão. p = 0,84, ANOVA seguida de Teste de Tukey.

Em relação às cascas de outros frutos, a pinha apresentou maior rendimento que a casca de maracujá, descrita como inferior a 30% (Cazarin, Silva, Colomeu, Zollner, Maróstica, 2014), porém o extrato aquoso de jabuticaba possui elevado rendimento de acordo com a literatura, pouco mais de 70% (Oliveira et al., 2018).

O rendimento de um extrato aquoso bruto se dá pela grande quantidade de componentes hidrossolúveis presentes nos tecidos vegetais (Nobre, Mendes, Porto, Azevedo & Brandão, 2014). Ademais, a grande variabilidade de seu rendimento ocorre por causa da variação no conteúdo de compostos como carboidratos e proteínas, embora o teor de fenóis também seja bem variado dependendo do gênero da planta e da parte utilizada (Amarante, Souza, Benincá & Steffens, 2017).

Além disso, o processo de desidratação e de trituração auxilia na liberação de compostos hidrofóbicos e aumenta a superfície de contato do solvente com os compostos químicos do material vegetal. Assim, há maior possibilidade de extração, com um ponto de saturação médio por volta dos 40% de rendimento (Roesler et al., 2007).

Na avaliação dos compostos químicos, o extrato aquoso da casca de pinha apresentou carboidratos e diversas classes de metabólitos secundários (Tabela 2). As mesmas classes de compostos se mostraram presentes em todas as amostras avaliadas, demonstrando sua riqueza de constituintes e estabilidade de suas presenças.

Tabela 2
Triagem fitoquímica do extrato aquoso da casca do fruto da pinha.

Amostra	2018	2019	2020
Compostos fenólicos	+	+	+
Alcaloides	+	+	+
Carboidratos	+	+	+
Desoxiaçúcares	+	+	+
Esteroides e triterpenos	+	+	+
Flavonoides	+	+	+
Oxalatos	Ausente	Ausente	Ausente
Quinonas	+	+	+
Saponinas	+	+	+
Taninos	+	+	+
Terpenos	+	+	+

Fonte: Os autores.

Nota: + reagente.

Já existem estudos que descrevem a variedade dos constituintes, principalmente do metabolismo secundário em outras partes da *Annona squamosa* (Ravaomanarivo et al., 2014; Kalidindi et al., 2015). Especificamente na casca, o extrato aquoso apresentou maior variedade de componentes quando comparado a estudos de outras partes da planta, como as folhas, que não possuem alcaloides, taninos e esteroides (Kalidindi et al., 2015), a polpa, que não contém triterpenos e esteroides (Nandhakumar & Indumathi, 2013) e as sementes, que não possuem alcaloides, desoxiaçúcares e saponinas (Ravaomanarivo et al., 2014).

Devido à presença de várias classes diferentes de constituintes químicos, o extrato aquoso da casca do fruto de pinha se mostra promissor para atividades como antioxidantes e anti-inflamatórias, por causa da figuração de flavonoides (Beigh et al., 2022). A existência de taninos indica a possibilidade do potencial cicatrizante (Su et al., 2017). Ainda, há grandes chances de potencial analgésico, em razão da configuração de alcaloides (Li et al., 2021) e terpenos (Carvalho et al., 2019). A maior parte dessas atividades já são atribuídas ao fruto e a outras partes da planta em seu uso popular (Quílez et al., 2018). Logo esses achados indicam a possibilidade de utilização da casca, muitas vezes desprezada, como fonte de compostos de origem vegetal com grande valor para bioprospecção.

CONCLUSÃO

A casca do fruto da pinha é um produto vegetal subutilizado. Seu extrato aquoso possui bom rendimento e é constituído de rica variedade de compostos com potencial biotecnológico. Os achados deste estudo despertam a necessidade de estudos que identifiquem os componentes químicos e os isolem, bem como haja investigação da ação desses componentes frente às diversas atividades já realizadas em seu uso popular, no intuito de validar a sua utilização.

REFERÊNCIAS

- Aguilar-Villalva, R., Molina, G. A., Espanã-Sánchez, B. L., Díaz-Peña, L. P., Elizalde-Mata, A., Valerio, E., ... Estevez, M. (2021). Antioxidant capacity and antibacterial activity from *Annona cherimola* phytochemicals by ultrasound-assisted extraction and its comparison to conventional methods. *Arabian Journal of Chemistry*, *14*, pp. 103239. doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103239
- Amarante, C. V. T., Souza, A. G., Benincá, T. D. T., & Steffens, C. A. (2017). Phenolic content and antioxidant activity of fruit of Brazilian genotypes of feijoa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *52*(12), pp. 1223-1230. doi: 10.1590/S0100-204X2017001200011
- Beigh, S., Rehman, M. U., Khan, A., Patil, B. R., Makeen, H. A., Rasool, S., ... Kamal, M. A. (2022). Therapeutic role of flavonoids in lung inflammatory disorders. *Phytomedicine Plus*, *2*(1), pp. 100221. doi: 10.1016/j.phyplu.2022.100221
- Carvalho, A. M. S., Heimfarth, L., Santos, K. A., Guimarães, A. G., Picot, L., Almeida, J. R. S. S., ... Quintans-Júnior, L. J. (2019). Terpenes as possible drugs for the mitigation of arthritic symptoms – a systematic review. *Phytomedicine*, *57*, pp. 137-147. doi: 10.1016/j.phymed.2018.10.028
- Cazarin, C. B. B., Silva, J. K., Colomeu, T. C., Zollner, R. L., Maróstica, M. R. Jr. (2014). Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). *Ciência Rural*, *44*(9), pp. 1699-1704. doi: 10.1590/0103-8478cr20131437
- Chen, Y., Xu, S., Chen, J., Wang, Y., Xu, H., Fan, N., & Li, X. (2012). Anti-tumor activity of *Annona squamosa* seeds extract containing annonaceous acetogenin compounds. *Journal Ethnopharmacology*, *142*, pp. 462-466. doi: 10.1016/j.jep.2012.05.019

- Cordeiro, M. C. R., Pinto, A. C. Q., & Ramos, V. H. V. (2000). O cultivo da pinha, fruta-do-conde ou ata no Brasil. Planaltina: Embrapa Cerrados.
- Costa, N. B., Teles, A. M., Oliveira, M. V. S., Oliveira, E. S., & Mouchrek, A. N. (2021). Obtenção do perfil químico de extratos das folhas do cajueiro (*Anacardium occidentale*) a partir de diferentes solventes. *Research, Society and Development*, 10(8), pp. e40110817473. doi: 10.33448/rsd-v10i8.17473
- Franzen, F. L., Fries, L. L. M., Oliveira, M. S. R., Lidório, H. F., Menegaes, J. F., & Lopes, S. J. (2018). Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração. *Acta Iguazu*, 7(1), pp. 9-21. doi: 10.48075/actaiguazu.v7i1.16765
- Kalidindi, N., Thimmaiah, N. V., Jagadeesh, N. V., Nanddeep, R., Swetha, S., & Kalidindi, B. (2015). Antifungal and antioxidant activities of organic and aqueous extracts of *Annona squamosa* Linn. leaves. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(2015), pp. 795-802. doi: 10.1016/j.jfda.2015.04.012
- Kill, L. H. P., & Costa, J. G. (2003). Biologia floral e sistema de reprodução de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) na região de Petrolina-PE. *Ciência Rural*, 33(5), pp. 851-856. doi: 10.1590/S0103-84782003000500009
- Kloss, L. C., Albino, A. M., Souza, R. G., & Lima, R. A. (2016). Identification of classes of secondary metabolites of ethanol extract of *Piper umbellatum* L. (Piperaceae). *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*. 3(2), pp. 118-128.
- Li, R. I., Zhang, Q., Liu, J., He, L., Huang, Q., Peng, W., & Wu, C. (2021). Processing methods and mechanisms for alkaloid-rich Chinese herbal medicines: a review. *Journal of Integrative Medicine*, 19(2), pp. 89-103. doi: 10.1016/j.joim.2020.12.003
- Oliveira, F. C., Marques, T. R., Machado, G. H. A., Carvalho, T. C. L., Caetano, A. A., Batista, L. R., & Corrêa, A. D. (2018). Jaboticaba skin extracts: phenolic compounds and antibacterial activity. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, pp. e2017108. doi: 10.1590/1981-6723.10817
- Ma, C., Chen, Y., Chen, J., Li, X., & Chen, Y. (2017). A review on *Annona squamosa* L.: phytochemicals and biological activities. *American Journal of Chinese Medicine*. 45(5), pp. 1-32. doi: 10.1142/s0192415x17500501
- Nandhakumar, E., & Indumathi, P. (2013). *In vitro* antioxidant activities of methanol and aqueous extract of *Annona squamosa* (L.) fruit pulp. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 6(3), pp. 142-148. doi: 10.1016/j.jams.2012.09.002
- Nobre, D. A. C., Mendes, R. B., Porto, B. B. A., Azevedo, D. M. Q., & Brandão, D. S. Jr. (2014). Bioatividade de extratos aquosos de plantas medicinais em sementes de feijão-fava. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(2), pp. 467-472. doi: 10.1590/1983-084X/13_021
- Quílez, A. M., Fernández-Arche, M. A., García-Gimenez, M. D., & Puerta, R. (2018). Potential therapeutic applications of the genus *Annona*: local and traditional uses and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 225, pp. 244-270. doi: 10.1016/j.jep.2018.06.014
- Ravaomanarivo, L. H. R., Razfindraleva, H. A., Raharimalala, F. N., Rasoahantaveloniaina, B., Ravelonandro, P. H., & Mavingui, P. (2014). Efficacy of seed extracts of *Annona squamosa* and *Annona muricata* (Annonaceae) for the control of *Aedes albopictus* and *Culex*

quinquefasciatus (Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(10), pp.798-806. doi: 10.12980/APJTB.4.2014C1264

Roesler, R., Malta, L. G., Carrasco, L. C., Holanda, R. B., Sousa, C. A. S., & Pastore, G. M. (2007). Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(1), pp. 53-60. doi: 10.1590/S0101-20612007000100010

Sreenivasulu, N., & Fernie, A. R. (2022). Diversity: current and prospective secondary metabolites for nutrition and medicine. *Current Opinion in Biotechnology*, 74, pp. 164-170. doi: 10.1016/j.copbio.2021.11.010

Su, X., Liu, X., Wang, S., Li, B., Pan, T., Liu, D., ... Diao, Y., Li, Y. (2017). Wound-healing promoting effect of total tannins from *Entada phaseoloides* (L.) Merr. in rats. *Burns*, 43(4), pp. 830-838. doi: 10.1016/j.burns.2016.10.010

Tu, W., Zhu, J., Bi, S., Chen, D., Song, L., Wang, L., ... Yu, R. (2016). Isolation, characterization and bioactivities of a new polysaccharide from *Annona squamosa* and its sulfated derivative. *Carbohydrate Polymers*, 152, pp. 287-296. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.07.012

Vikas, B., Akhil, B. S., Remani, P., & Sujathan, K. (2017). Free radical scavenging properties of *Annona squamosa*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 18(10), pp. 2725-2731. doi: 10.22034/2FAPJCP.2017.18.10.2725