

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE UNIDADE ACADÊMICA DE BIOLOGIA E QUÍMICA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E TOXICIDADE DO FRUTO DO CUITÉ

(Crescentia cujete Linn)

ALINE DE LIMA ARAÚJO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E TOXICIDADE DO FRUTO DO CUITÉ

(Crescentia cujete Linn)

Monografia apresentada à Universidade Federal de Campina Grande como Trabalho de Conclusão do Curso de Licenciatura em Química.

Orientadora: Prof^{a.} Dr^{a.} Ana Regina Nascimento Campos

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

A663c Araújo, Aline de Lima.

Caracterização física, química e toxicidade do fruto do Cuité (*crescentia cujete linn*). / Aline de Lima Araújo. – Cuité: CES, 2015.

47 fl.

Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientadora: Dra. Ana Regina Nascimento Campos.

1. Biometria. 2. Fruto do Cuité - toxicidade. 3. Fruto do Cuité - caracterização. I. Título.

CDU 633.88

ALINE DE LIMA ARAÚJO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E TOXICIDADE DO FRUTO DO CUITÉ

(Crescentia cujete Linn)

Monografia apresentada à Universidade Federal de Campina Grande como Trabalho de Conclusão do Curso de Licenciatura em Química
Aprovado em// 2015
BANCA EXAMINADORA
Prof ^{a.} Dr ^{a.} Ana Regina Nascimento Campos UFCG/CES/UABQ
Prof. Dr. Renato Alexandre Costa de Santana UFCG/CES/UABQ

Me. Mislene Pereira LinsUFCG/CES/UABQ

Dedico,

Aos meus pais Ramos e Edmarta, e aos irmãos Algrim e Ronne por todo amor, incentivo e compreensão que me ofereceram durante a graduação, e por toda a vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar e me da força pra seguir em frente diante das dificuldades encontradas ao longo dessa jornada.

Aos meus pais Severino e Edmarta ao qual tenho amor imenso, e muita admiração. Obrigada por me apoiarem e acreditarem em mim me dando condições e motivação de seguir em frente.

Aos meus irmãos Algrim e Ronne pela união, carinho e companheirismo que sempre existiu em nossas vidas.

Ao meu namorado Allankeily, por todos os momentos em que esteve presente, e por todo o apoio prestado, meu amor obrigada por fazer parte da minha vida.

A minha orientadora Prof.ª. Dra. Ana Regina Nascimento Campos, pela paciência, dedicação, e incentivo. Obrigada pelos conhecimentos compartilhados tornando este trabalho possível.

Ao Prof. Dr. Renato Alexandre Costa de Santana, pela paciência e contribuições que vieram a enriquecer a pesquisa.

Aos meus colegas de laboratório: Daniel, Israel Lázaro, Eudes, Anderson, Mônica, Anamélia, e Mislene aos quais sempre admirei e tive imenso respeito. Obrigada pela contribuição ao longo deste trabalho.

As amigas: Dayana Moreira, Suzan Lira, Luana Magalhães, Jakeline Martins, e Ana Paula Costa, por todo carinho e bons momentos que podemos compartilhar.

"E de repente o que parece ser insignificante para alguns, é para mim uma coleção de teorias e aplicações que resultam em fatos científicos comprovados".

Aline Araújo

RESUMO

O cuité (Crescentia cujete Linn) é uma espécie de planta que pertence à família Bignoniaceae, nativa da América Central e pode ser encontrada em todo o Nordeste do Brasil. De acordo com a utilização, modo de preparo e, tempo de tratamento, uma determinada planta pode apresentar, tanto uma ação terapêutica, quanto tóxica, sendo de suma importância o controle dos possíveis efeitos adversos que o uso agudo pode acarretar no organismo. Para tanto, os testes de toxicidade aguda são elaborados com a finalidade de prever os efeitos tóxicos ou de averiguar a toxicidade relativa das substâncias. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características físicas e químicas do fruto do cuité (Crescentia cujete L.) e avaliar seu potencial toxicológico utilizando o bioensaio com Artemia salina Leach. Os frutos do cuité utilizados para o referido estudo foram coletados de árvores adultas localizadas nos jardins do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, na cidade de Cuité, Paraíba. As características físicas do fruto in natura determinadas no estudo foram: massa total, massa da polpa (externa e interna), espessura da casca e espessura da polpa externa, comprimento, largura e circunferência. Foram realizadas análises químicas de teor de água, pH, acidez titulável e proteína bruta da casca, polpa externa, polpa interna e semente do fruto e também das folhas do cuité. Também se determinou a concentração letal 50 % (CL₅₀) dos extratos etanólico como parâmetro de toxicidade. A massa total do fruto constitui-se de aproximadamente 25 % de polpa externa, 60 % de polpa interna e sementes e, 15 % de casca. O teor de água médio apresentado para a casca do fruto foi de 45,62 %; para a polpa externa 88,06 %; polpa interna 89,20 %, para as sementes 74,07 % e, nas folhas foi encontrado um valor de teor de água de 56,37 %. Os valores de pH encontrados foram: casca (6,22), polpa externa (5,29), polpa interna (4,88), sementes (5,73) e folhas (6,12). Dos quatro extratos etanólicos analisados, todos apresentaram valores de concentrações superiores a CL₅₀ >1000 ppm, indicando assim que os extratos do fruto de Crescentia cujete não são tóxicos.

Palavras-chave: Biometria; Toxicidade; Cabaça.

ABSTRACT

The calabash (Crescentia cujete Linn) is a plant species belonging to the family Bignoniaceae, native to Central America and can be found throughout the Northeast of Brazil. According to the use, preparation mode, treatment time, a particular plant may have both a therapeutic action, as toxic, which is extremely important to control the possible adverse effects that acute use may result in the body. Therefore, the acute toxicity tests are made with the purpose to predict the toxic effects or to determine the relative toxicity of the substances. The objective of this study was to evaluate the physical and chemical characteristics of the fruit of calabash (Crescentia cujete L.) and evaluate their toxicological potential using the bioassay Artemia salina Leach. Calabash of the fruits used for this study were collected from adult trees located in the gardens of the Center for Education and Health of the Federal University of Campina Grande, in the city of Cuité, Paraíba. The physical characteristics of the fruit in natura determined in the study were: total mass, mass of pulp (external and internal), shell thickness and thickness of the outer pulp, length, width and circumference. Chemical analysis of water content were held, pH, titratable acidity and crude protein of the shell, external pulp, inner pulp of the fruit and seed, and also the cuité leaves. It also determined the 50% lethal concentration (CL_{50}) of ethanolic as a parameter of toxicity. The total fruit weight is made up of approximately 25 % of external pulp, 60 % of internal pulp and seeds, and 15 % peel. The average water content presented for the peel of the fruit was 45.62 %; to the external pulp 88.06 %; Internal pulp 89.20 % to 74.07 % of the seeds and the leaves was found a value of 56.37 % water content. The pH values were: skin (6.22), external pulp (5.29), internal pulp (4.88), seeds (5.73) and leaves (6.12). Of the four analyzed ethanol extracts, all presented values of concentrations higher than CL₅₀> 1000 ppm, indicating that the Crescentia cujete fruit extracts are not toxic.

Keywords: Biometrics; Toxicity; calabash

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Algumas aplicações med	dicinais de Crescentia cujete	9
Tabela 2 - Valores das massas dos f	frutos do cuité (Crescentia cujete Linn)	24
Tabela 3 - Biometria dos frutos do c	cuité (Crescentia cujete Linn)	24
Tabela 4 - Caracterização química	do fruto e folhas do cuité (Crescentia cujete Linn.	.)25
casca, polpa externa, pol	alina vivas após 24 h de exposição ao extrato etanó lpa interna e semente do fruto e folhas de <i>Crescent</i>	tia
	s limites de confiança para os extratos etanólicos de nterna e sementes do fruto de <i>Crescentia cujete</i>	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Folhas do cuité (<i>Crescentia cujete</i> Linn) A) disposição das folhas na árvore B)
Detalhes da estrutura das folhas4
Figura 2- Flor do cuité (<i>Crescentia cujete</i> Linn)5
Figura 3 - A) Fruto do cuité fechado B) Fruto verde aberto no sentido transversal C) Fruto
maduro aberto6
Figura 4 – Sementes do fruto do cuité (<i>Crescentia cujete</i> Linn.)6
Figura 5 – <i>Artemia salina</i> Leach, com ampliação de 100x
Figura 6 - Cuité (Crescentia cujete Linn)
Figura 7 - Fruto do cuité (<i>Crescentia cujete</i> Linn.)
Figura 8 - Incubadora de vidro com divisória, coberta parcialmente, sob iluminação21
Figura 9 - Erlenmever coberto contendo extrato

SUMÀRIO

1.	INTRODUÇAO1
2.	OBJETIVOS3
2.1	OBJETIVO GERAL3
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS2
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA4
3.1	ASPECTOS GERAIS4
3.2	PERFIL TOXICOLÓGICO DA ESPÉCIE CRESCENTIA CUJETE LINN 10
3.3.	BIOENSAIO TOXICOLÓGICO11
3.4	ESTADO DA ARTE13
4.	METODOLOGIA16
4.1	LOCAL E COLHEITA DOS FRUTOS16
4.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO FRUTO DO CUITÉ17
4.3	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ19
4.3.1	Determinação do teor de água19
4.3.2	Determinação do pH19
4.3.3	Determinação da acidez titulável19
4.3.4	Determinação de proteína bruta20
4.4	INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ20

5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO FRUTO DO CUITÉ	23
5.2	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ	25
5.3	INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ	26
6.	CONCLUSÕES	.29
7.	REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

O cuité (*Crescentia cujete* Linn) é uma espécie de planta que pertence à família Bignoniaceae, nativa da América Central e pode ser encontrada em todo o Nordeste do Brasil. Ocorre desde a Amazônia até a região sudeste onde foi introduzida para cultivo (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014). É comum em jardins, devido à boa aparência dos frutos e sua casca depois de seca é bastante usada no artesanato para a produção de utensílios domésticos (cuia), instrumentos musicais (maracas e chocalhos) e artigos de decoração.

A Árvore do *Crescentia cujete* Linn tem de 4 a 6 m, dotada de copa larga e baixa, de ramos tortuosos e um tanto pendentes com tronco de 20 a 30 cm de diâmetro, nativa da américa tropical. Suas folhas são simples, inteiras, alongadas de diversos tamanhos, sem corte nas extremidades e de base estreitada. As flores são amareladas e, por vezes com veios púrpura, com um ligeiro odor fétido. O fruto dessa espécie é grande com até 30 cm de diâmetro, oval ou subgloboso, epicarpo verde, flexível, lenhoso, delgado, leve e resistente, contendo uma polpa, suculenta, envolvendo numerosas sementes chatas e de cor amarelas (LORENZI, 2002).

A presença de compostos tóxicos naturais em alguns alimentos vegetais é um fato relativamente comum que evidencia a necessidade de se dispor de técnicas analíticas eficientes na detecção de tais substâncias (GARCIA *et al.*, 2009). No uso popular, muitas espécies são utilizadas sem que haja estudos toxicológicos. Segundo o conhecimento popular, a planta por apresentar origem natural, provavelmente não acarreta riscos á saúde, reforça ainda mais a necessidade de extrema preocupação com relação ao seu uso (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

De acordo com a utilização, modo de preparo, e tempo de tratamento, uma determinada planta pode apresentar, segundo Gomes *et al.*, (2001), tanto uma ação terapêutica, quanto tóxica, sendo de suma importância o controle dos possíveis efeitos adversos que o uso agudo pode acarretar no organismo. Para tanto, os testes de toxicidade aguda são elaborados com o objetivo de prever os efeitos tóxicos ou de averiguar a toxicidade relativa das substâncias.

A avaliação de toxicidade geral é considerada fundamental como bioensaio preliminar no estudo de substâncias com propriedades biológicas. O primeiro tipo de teste toxicológico a que são submetidos os compostos é de agudo-letal, que consiste de uma análise após curta exposição (24- 48h) do composto com o organismo bioindicador.

Desta maneira, a avaliação da letalidade em um organismo animal menos complexo pode ser usada para um monitoramento simples e rápido durante o fracionamento de extratos (LHULLIER *et al.*, 2006). A *Artemia salina* Leach é um microcrustáceo de água salgada de ampla distribuição geográfica e resistência ambiental, e é usada para inúmeros estudos de ecotoxicidade e na avaliação de produtos como pesticidas, derivados petroquímicos e dispersantes, metais pesados, derivados carcinogênicos e metabólitos de micro-organismos. A simplicidade com que pode ser manuseado, a rapidez dos ensaios e o baixo custo favorece a sua utilização rotineira em diversos estudos, além do que, tais ensaios de letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral (NASCIMENTO *et al.*, 2008)

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as características físicas e químicas do fruto do cuité (*Crescentia cujete* Linn) e avaliar seu potencial toxicológico utilizando o bioensaio com *Artemia salina* Leach.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar fisicamente o fruto *in natura* do cuité (massa e biometria);
- Analisar quimicamente as partes do fruto (semente, polpa externa, polpa interna e casca) e folhas do cuité;
- Investigar a toxicidade do extrato etanólico bruto da semente, polpa externa, polpa interna e casca do fruto e folhas do cuité frente à *Artemia Salina* Leach;
- Determinar a concentração letal 50 % (CL₅₀) dos extratos etanólico como parâmetro de toxicidade.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ASPECTOS GERAIS

O cuité (*Crescentia cujete* Linn) é uma espécie originária da América Central e pertence à Família Bignoniaceae dotada de copa larga e baixa, de ramos tortuosos e um tanto pendentes. Suas folhas são simples, inteiras, alongadas de diversos tamanhos, de 5-11 cm de comprimento, persistentes, alternas, frequentemente agrupadas em pequenos feixes, desprovida de pelos, cor verde escuro, brilhantes na parte superior, sem corte nas extremidades e de base estreitada. (LORENZI 2002)

Na Figura 1(A e B) observa-se a disposição das folhas na árvore e detalhes da sua estrutura, respectivamente.

Figura 1 - Folhas do cuité (*Crescentia cujete* Linn) A) disposição das folhas na árvore B)

Detalhes da estrutura das folhas





Fonte: Autoria própria

As flores (Figura 2) desenvolvem-se a partir dos brotos que crescem no tronco principal, amarelada e, por vezes com veios púrpura, com um ligeiro odor fétido, que ocorrem isoladamente ou em pares abaixo das folhas, hermafroditas, com cerca de 6 cm de comprimento, e abre à noite. De outubro a maio corresponde o período de florescência (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014).



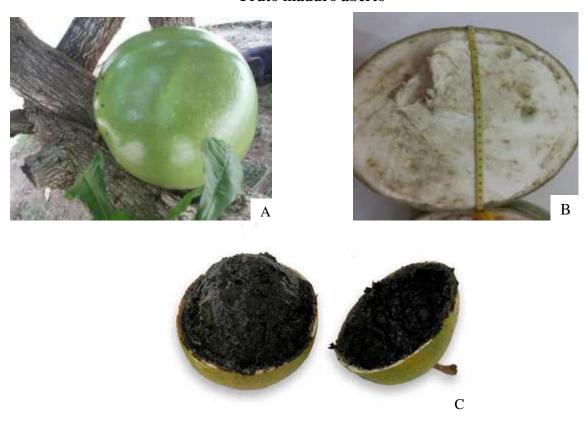
Figura 2- Flor do cuité (Crescentia cujete Linn)

Fonte: Autoria própria.

O fruto dessa espécie é do tipo baga, grande com até 30 cm de diâmetro, oval ou subgloboso, epicarpo verde, flexível, lenhoso, delgado, leve e resistente, contendo uma polpa, suculenta, envolvendo numerosas sementes chatas e de cor amarelas (LORENZI, 2002). O fruto verde apresenta uma polpa esbranquiçada, e quando maduro a polpa apresenta coloração escura e melhor palatabilidade para os animais, segundo Assis *et al.* (2009). As cascas dos frutos tornam-se marrom-negro quando maduros mostrando uma maior resistência externa em comparação com o fruto ainda verde. O período de frutificação compreende julho a setembro (LORENZI, 2002). Na Figura 3A pode ser observado o fruto do cuité ainda verde, fechado, na Figura 3B observa-se o fruto verde, aberto no sentido transversal, destacando-se a polpa esbranquiçada e sementes nela contida e na Figura 3C, destaca-se a coloração escura da polpa do fruto maduro. Na Figura 4 observam-se separadamente as sementes de tamanho variado, mas sempre inferiores a 1 cm.

Figura 3 - A) Fruto do cuité fechado B) Fruto verde aberto no sentido transversal C)

Fruto maduro aberto



Fonte: A e B - Autoria própria, C- (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014).



Figura 4 – Sementes do fruto do cuité (*Crescentia cujete* Linn)

Fonte: Autoria própria

Planta também conhecida popularmente como coité (vem do tupi e significa "vasilha ou panela"), cuia, cuieira, cabaço, árvore de cuia, cabaceira, cuiteseira, cuitereira e cina. No Brasil, ocorre desde a Amazônia até a região sudeste onde foi introduzida para cultivo (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014). As mudas propagadas por estacas lenhosas de 1,5 cm de diâmetro por 25 cm de comprimento, iniciam a frutificação com 2 anos, enquanto plantas oriundas de sementes começam a frutificar com 4 a 5 anos. Adapta-se a qualquer altitude e vários tipos de solos, mais frutificam melhor em terras vermelhas, úmidas e ricas em matéria orgânica. Resiste bem à secas de até três meses sem chuvas (colecionandofrutas.org /crescentiacujete. htm, 2015).

É comum em parques e jardins, devido à boa aparência dos frutos, a casca depois de seca é bastante usada no artesanato para a produção de utensílios domésticos (cuia), instrumentos musicais (maracas e chocalhos), artigos de decoração que podem ser decorados com esculturas ou pinturas. Por este aspecto utilitário é cultivada nos terreiros das casas dos sertanejos (LORENZI, 2002). Outros usos também são citados, o revestimento fibroso do fruto é por vezes usado como um substituto para a base do cachimbo (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014).

A importância da casca do fruto (cuia) está associada a outros elementos naturais, que podem ser armazenados em seu interior. No México a cuia era o recipiente para o chocolate, milho e para corações e sangue derramados em rituais. Em países andinos como: Colômbia, Peru, pequenas cuias serviram para armazenar o calcário e a coca (*Erythroxylum coca*), produtos utilizados para enfrentar as grandes altitudes, onde o oxigênio é escasso, além de guardar líquidos e grãos. No Brasil, Paraguai e Venezuela, esses frutos foram utilizados como colmeias para a produção de mel (BASTOS, 2010).

A polpa do fruto tem em sua composição química quantidades significativas de proteínas, carboidratos, fibras e ácido cianídrico e alguns minerais como sódio, potássio, cálcio, fósforo e magnésio, em concentrações que variam de acordo com o estado de maturação, além de elevadas concentrações de tiamina (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014 e FLÓREZ, 2012). Segundo Flórez (2012) a polpa madura, após a silagem, é considerada a alternativa mais conveniente para a alimentação de bovinos, pois nesse estado é encontrado o maior teor de proteína e minerais e baixa concentração de ácido cianídrico. Na semente foi identificado 59,4 % de ácido oleico, 19,3 % de ácido linoleico, 1,6% de ácido linolénico, as folhas apresentam características antioxidantes, com significativas propriedades de eliminação de radicais livres (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014).

Por ser uma espécie de planta comum em algumas regiões, muitos utilizam para fins medicinais. Na província de Camaguey em Cuba, *Crescentia cujete* é considerado uma panaceia, remédio ao qual é atribuída a capacidade de curar qualquer tipo de doença (PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS, 2014). A Tabela 1 mostra algumas aplicações medicinais de *Crescentia cujete*, a parte da planta utilizada e sua aplicação.

Tabela 1- Algumas aplicações medicinais de Crescentia cujete

PARTE UTILIZADA	INDICAÇÃO			
	Diarreia			
	Dor de cabeça			
	Limpeza de feridas			
Casca	Mucoide			
	Tratar tumores			
	hematomas			
	Anemia			
	Anti-inflamatório			
	Antipirético			
	Bronquite			
	Constipação			
	Doença de pele (erisipela)			
Polpa (Verde)	Dor de cabeça			
Tolpa (verue)	Dor de estômago			
	Expectorante			
	Irregularidades menstruais			
	Laxante			
	Queimaduras			
	Tosse e Resfriados			
	Estimular a expulsão d			
Polpa (Madura)	placenta após o parto			
	Cicatrizante			
	Constipação			
	Diurético			
Folha	Dor de dente			
τυμα	Dores na coluna			
	Hipertensão			
	Problemas renais			
Sementes	Diurético			
Sementes	Purgativo			

Fonte: OLIVEIRA *et al.* (2012); LORENZI (2002), ENCICLOPÉDIA BIOSFERA (2010) e PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS (2014)

Em estudo bibliográfico de Ozaki e Duarte (2006) sobre fitoterápicos utilizados na medicina veterinária, em cães e gatos, a polpa do fruto do cuité é citada por apresentar propriedades repelentes contra pulgas, além de ser aplicada em dermatites, cortes, queimaduras de sol e problemas de pele de cachorros. Os autores descrevem que a polpa do fruto pode ser aplicada externamente em cães afetados por mange (*Demodex canis*), doença causada por ácaros e que causa graves desordens na pele dos animais. Monteiro, Rodrigues e Camurça-Vasconcelos (2012) em estudo sobre plantas medicinais utilizadas na medicina etnoveterinária praticada na Ilha do Marajó, mencionam que além de enfermidades dos cães, podem ser tratados, gatos, búfalos e bovinos.

3.2 PERFIL TOXICOLÓGICO DA ESPÉCIE CRESCENTIA CUJETE L.

A presença de compostos tóxicos naturais em alguns alimentos vegetais é um fato relativamente comum que evidencia a necessidade de se dispor de técnicas analíticas eficientes na detecção de tais substâncias (GARCIA *et al.*, 2009).

No uso popular, muitas espécies são utilizadas sem que haja estudos toxicológicos. Segundo o conhecimento popular, a planta por apresentar origem natural, provavelmente não acarreta riscos á saúde, reforça ainda mais a necessidade de extrema preocupação com relação ao seu uso (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

Martins e Almeida (2012) realizaram estudo fitoquímico e cromatografia gasosa do extrato bruto etanólico da polpa do fruto do cuité (*Crescentia cujete* Linn). No estado do Amapá a prática do aborto é bastante difundida e realizada com a utilização de produtos naturais, entre eles a polpa do fruto do cuité. Na análise do extrato os autores observaram reação positiva para as seguintes classes de metabólitos secundários: ácidos orgânicos, açúcares redutores, saponinas espumíticas, alcaloides, fenóis e taninos e concluíram que de acordo com a literatura a presença de alcaloides indica certo grau de toxicidade, o que em excesso pode levar danos à saúde e que sendo utilizado em período gestacional pode ser que leve ao aborto, porém mesmo com os testes desenvolvidos ainda não é possível afirmar o grau de toxicidade e testes mais específicos serão necessários.

ASSIS *et al.*, (2009) estudaram intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano. Nesse estudo foi realizado um levantamento das intoxicações por plantas em 20 municípios da região, sendo entrevistados 50 produtores e 11 médicos veterinários.

Dentre as várias plantas citadas pelos produtores entrevistados estava a *Crescentia cujete*. Um dos entrevistados relatou que ao utilizar o fruto para produção de "cuias", deixou a polpa do fruto em uma área acessível ao gado, a mesma foi consumida por um bovino, que foi encontrado morto na manhã seguinte. Para comprovar a toxicidade da planta, a polpa do fruto foi administrada a um caprino com peso médio de 8,9 kg mediante sonda esofágica em uma dose única de 40mg/kg, o mesmo não apresentou sinal clínico de intoxicação. Outra cabra, prenhe, pesando 32,7 kg de peso vivo, com aproximadamente 70 dias de gestação recebeu, diariamente, por via oral, 5g da polpa por kg de peso corporal. Após 84 dias de gestação o animal pariu um cabrito morto, e outro vivo que morreu em cerca de 20 horas. O experimento foi repetido com uma cabra com aproximadamente 130 dias de gestação, após 17 dias de administração da planta a cabra abortou. Os pesquisadores concluíram que a polpa do fruto é abortiva para caprinos, assim como mostrou uma relação de plantas que os produtores relataram como tóxicas, no entanto sua toxicidade não foi comprovada.

3.3 BIOENSAIO TOXICOLÓGICO

A toxicidade de uma substância a um organismo vivo pode ser considerada como a capacidade de lhe causar algum desequilíbrio, um dano grave ou morte. Segundo a toxicologia, toda substância pode ser considerada um agente tóxico, isso depende de fatores como: condições, tempo e frequência da exposição e via pela qual é administrada (ALVES, 2014).

Com o intuito de avaliar as possíveis interações de uma substância com atividade biológica e um organismo, visando classificar a toxicidade, as técnicas dos testes de toxicidade compreendem uma série de dados que podem ser obtidos por meio de microorganismos e animais de laboratório ou seres humanos (CAVALCANTE *et al.*, 2000).

A avaliação de toxicidade geral é considerada fundamental como bioensaio preliminar no estudo de substâncias com propriedades biológicas. O primeiro tipo de teste toxicológico a que são submetidos os compostos é de agudo-letal, que consiste de uma análise após curta exposição (24 – 48h) do composto com o organismo bioindicador. Nesse teste obtém- se uma taxa de sobrevivência deste ao produto testado, ou seja, a concentração ou dose letal mediana (CL₅₀ ou DL₅₀, respectivamente), capaz de causar a mortalidade em 50 % dos organismos em estudo (OLIVEIRA, BARBOSA E OKUYAMA, 2008). Entretanto este parâmetro vem

sofrendo críticas pelo grande número de animais usados e pelo fato do evento morte ser o pior de todos os efeitos tóxicos (ALVES, 2014).

A preocupação com o uso indevido de animais na experimentação sempre foi um assunto amplamente discutido, diversas leis e projetos foram elaborados para que o número de animais na experimentação fosse reduzido e que esses animais possuíssem uma boa qualidade de vida antes e durante os experimentos. Hoje no Brasil existem diversos órgãos que controlam o uso de animais em experimentos, como exemplo os comitês de ética responsáveis pela avaliação e aprovação de projetos de pesquisa com animais (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

Assim, as leis, discussões, projetos e comitês visam a diminuição do número de animais usados em experimentos toxicológicos, forçam uma reflexão acerca do tema e a implementação de testes preliminares que permitam realizar inferências que possibilitem a redução do uso de animais e uma discussão ampla dos resultados *in vitro* e *in vivo* (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

Diante de tantos fatores que podem influenciar na toxicidade de uma substância os testes *in vivo* ainda não podem ser substituídos completamente. No entanto, as metodologias podem sofrer redução com a atribuição de testes *in vitro* na triagem, respeitando os 3Rs: REDUÇÃO (Reduction): desenvolver novos protocolos com a utilização de menor número de animais por experimento; evitar a replicação dos estudos conduzidos *in vivo*; priorizar estudos com relevância e que possam ser extrapolados para espécie humana; desenvolver novas metodologias e modelos de triagem; aperfeiçoar a qualidade técnica dos ensaios; diminuir o número de animais em testes retirando do ensaio o maior número de informações possíveis.

REFINAMENTO (Refinement): valorizar os avanços científicos empregando as novas metodologias; preocupar-se com o bem estar dos animais, reduzindo o sofrimento dos mesmos. SUBSTITUIÇÃO (Replacement): desenvolver novas metodologias que possam substituir os ensaios *in vivo*; métodos *in vitro* e alternativos, assim como aqueles que se utiliza de células humanas devem ser priorizados (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

Desta maneira, a avaliação da letalidade em um organismo animal menos complexo pode ser usada para um monitoramento simples e rápido durante o fracionamento de extratos (LHULLIER *et al.*, 2006).

A Artemia salina Leach é um microcrustáceo marinho comumente conhecido por larva de camarão ou "nauplius", pertence à subclasse Branchiopoda, ordem Anostraca. De acordo com Bevilacqua et al. (2008) devido a ampla distribuição geográfica e resistência

ambiental, a *A. salina* é usada para inúmeros estudos de ecotoxicidade e na avaliação de produtos como pesticidas, derivados petroquímicos e dispersantes, metais pesados, derivados carcinogênicos e metabólitos de micro-organismos desde a década de 50. A Figura 5 mostra a imagem da *A. Salina*, com ampliação de 100x.



Figura 5 – Artemia salina Leach, com ampliação de 100x

Fonte: Autoria própria

Os ovos (cistos) deste crustáceo podem ser facilmente adquiridos em lojas de animais marinhos, e as larvas desenvolvem-se rapidamente em água salgada artificial, constituindo uma facilidade para a cultura do organismo (MACHADO, 2003). As larvas e cistos são usados em todo o mundo na aquicultura e em aquariologia como alimento vivo para peixes juvenis (MAYORGA *et al.*, 2010).

Ainda segundo Mayorga *et al.* (2010) um inconveniente do bioensaio utilizando a *A. salina* como indicador é o fato que o meio salino diminui a solubilidade e biodisponibilidade de algumas substâncias, o que pode limitar a detecção de eventuais constituintes bioativos da planta.

3.4 ESTADO DA ARTE

Bednarczuk *et al.* (2010) fizeram estudo sobre o constante uso de animais em práticas experimentais, enfatizando, as leis, discussões, projetos e comitês que visam à diminuição do número de animais usados em experimentos toxicológicos, apresentando a *A. salina* como um método alternativo que pode substituir ou diminuir o uso de animais na experimentação toxicológica de produtos naturais. Realizou-se uma pesquisa com substâncias ditas tóxicas pela literatura encontrando resultados satisfatórios, comprovando assim a eficiência dos testes com a *A. salina*, sugerindo sua implementação, uma vez que estas auxiliam na diminuição de experimentos com animais, que vem a ser uma preocupação dos comitês de ética.

Garcia *et al.*, (2009) pesquisaram a detecção de toxinas em alimentos vegetais utilizando bioensaio com *A. salina*. Os alimentos analisados foram mandioca, batata, sementes de frutas (pêssego, ameixa, cereja, jabuticaba, abacate e manga), esses alimentos já foram descritos por sua toxicidade em trabalhos anteriores. Para cada concentração, foi calculado o valor médio da mortalidade e do desvio padrão, sendo assim construídas as curvas de toxicidade. Na análise dos mesmos, as amostras apresentaram toxicidade frente aos testes, sendo assim comprovada a eficiência do bioensaio com as *A. salina*. Os autores classificaram o teste como sensível e seguro, já que os dados obtidos foram comparados com a literatura, chegando a conclusões semelhantes.

Machado, (2003) estudou a avaliação da toxicidade de plantas ornamentais frente ao teste com A. Salina. O estudo consistiu em avaliar o grau de toxicidade de plantas ornamentais ditas tóxicas, as plantas analisadas foram alamanda, aroeira, arruda, comigoninguém pode, copo- de-leite, coroa de cristo, espada- de-são-jorge, espirradeira, hera, jiboia e mamona. Das onze plantas submetidas ao bioensaio, apenas cinco apresentaram valor significativo de toxicidade frente a A. Salina, foram estas: Ruta graveolens (arruda), Sansevieria trifasciata (espada-de-são-jorge), Zantedeschia aethiopica (copo-de-leite), Nerium ollander (espirradeira) e Hedera helix (hera). Os extratos de Alamanda catártica terebinthifolius(Aroeira), Euphorbia milli, (Alamanda), Schinus (coroa-de-cristo) Dieffenbachia sp (comigo-ninguém pode), Scindapsus sp (jiboia), e Ricinus comunis (mamona), não mostraram toxicidade diante do bioensaio, a inatividade pode estar associada ainda, a sazonalidade, a idade e parte usada destas plantas.

Alves (2014) avaliou o potencial toxicológico do extrato etanólico bruto e frações (hexânicas, diclorometânica, acetatoetilíca e hidroalcoólica) de *Sida santaremnensis* através do bioensaio com *Artemia salina* Leach, visando à utilização mais segura em estudos farmacológicos posteriores. As frações diclorometânica e hexânicas apresentaram toxicidade

moderada, a fração hidroalcoólica, apresentou baixa toxicidade, a fração acetatoetilíca e o extrato etanólico bruto apresentaram maior toxicidade. O autor ressaltou a notória importância de estudos mais detalhados sobre a *Sida santaremnensis*, que avaliem o potencial farmacológico e tóxico, não só de seus extratos ou frações, mas também de compostos isolados, para uma melhor distinção de suas propriedades químicas e biológicas.

Andrade *et al.*, (2013) avaliaram a toxicidade dos frutos da castanhola (*Terminalia catappa* Linn), para analisar a viabilidade do uso destes frutos na alimentação humana, uma vez que não são aproveitados amplamente. A toxicidade da polpa do fruto foi avaliada por ensaios com o microcrustáceo *A. salina*. Os extratos foram solubilizados em dimetilsulfóxido 0,01%, preparados nas concentrações finais de 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 μg.mL⁻¹. O cálculo da CL₅₀ encontrou um valor de CL₅₀ igual a 24.850,452 μg.mL⁻¹, sendo este valor superior à CL₅₀ >1000 ppm, mostrando assim que o extrato da polpa da *Terminalia catappa* Linn não é tóxico e não gera risco à saúde do consumidor.

4. METODOLOGIA

As atividades foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES).

4.1 LOCAL E COLHEITA DOS FRUTOS

Os frutos do cuité (*Crescentia cujete* Linn) utilizados para o referido estudo foram coletados de árvores adultas localizadas nos jardins do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, na cidade de Cuité, Paraíba (Figura 6). A cidade situa-se na mesorregião do Agreste e microrregião do Curimataú Ocidental Paraibano, cujas coordenadas geográficas são 6° 28' 54'' de latitude sul e 36° 8' 59'' de longitude oeste e altitude de 661m. O clima do Território do Curimataú, segundo a classificação de Köeppen, é do tipo BSwh', que significa semiárido quente. As temperaturas mínimas variam de 18 a 22 °C nos meses de julho e agosto e as máximas se situam entre 28 e 31 °C, nos meses de novembro e dezembro (TERRITÓRIO DO CURIMATAÚ, 2010).

Procedeu-se a seleção dos frutos verdes com colheita efetuada de forma direta, no período de novembro de 2013 a junho de 2014, dando-se preferência à uniformidade e integridade da casca.



Figura 6 - Cuité (Crescentia cujete Linn)

Fonte: Autoria própria

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO FRUTO DO CUITÉ

As características físicas do fruto *in natura* determinadas no estudo foram: massa total, massa da polpa (externa e interna), espessura da casca e espessura da polpa externa, comprimento, largura e circunferência. Convencionou-se a denominação de polpa externa a parte mais próxima a casca do fruto e polpa interna o local central de maior proporção e onde se encontram as sementes, conforme mostra a Figura 7.

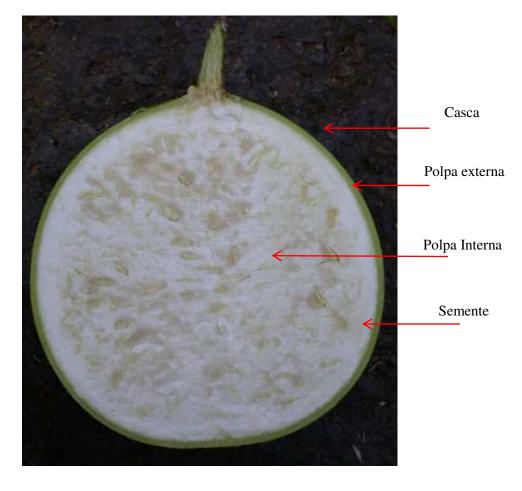


Figura 7 - Fruto do cuité (Crescentia cujete Linn)

Fonte: Adaptado de https://dokmaidogma.wordpress.com/(2015)

As massas, expressas em kilograma, foram mensuradas utilizando-se balança digital semi-analítica, Scientech SA 210. A medição da espessura da casca e da polpa externa, determinadas em três diferentes pontos, foi realizada utilizando-se um paquímetro digital, e os dados foram expressos em centímetros.

As dimensões comprimento (eixo longitudinal) e largura (eixo transversal) foram obtidas com régua e expressas em centímetros. E a circunferência do fruto foi obtida medindo-se a região mediana do fruto e foi determinada com fita métrica e também expressa em centímetros.

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ

Foram realizadas análises químicas da casca, semente, polpa externa, polpa interna do fruto e também das folhas do cuité. Foram determinados o teor de água (TA), pH, acidez titulável (AT) e proteína bruta (PB).

4.3.1 Determinação do teor de água

A determinação de teor de água é uma das medidas mais importantes e utilizadas na análise de alimentos. O teor de água de um alimento está relacionado com sua estabilidade, qualidade e composição (CECCHI, 2003).

O teor de água das amostras foi determinado seguindo-se metodologia adotada por (IAL 2008), tomando por base a perda de massa da amostra, após aquecimento direto da amostra em estufa (Fanem Modelo 315 SE) a 105°C por 24h, os resultados foram expressos em porcentagem.

4.3.2 Determinação do pH

Existem dois métodos para determinar a acidez: através da medida da concentração de íons hidrogênio no meio (pH) ou através da titulação (AT), quando se utiliza uma solução com álcali padrão (LIMA, 2006).

Para a determinação do pH foram utilizados 5g de amostra (em triplicata) que foram transferidos para um Erlenmeyer, com auxílio de 50 mL de água à 25 °C, recentemente fervida. A determinação do pH foi realizada através de medidas potenciométricas do líquido sobrenadante, em peagâmetro da Marca Metrohm 744 pH METER, conforme metodologia descrita em IAL (2008).

4.3.3 Determinação da acidez titulável

Determinou-se o conteúdo total de ácidos, por meio de titulação com hidróxido de sódio de concentração 0,1 M, essa determinação foi realizada conforme metodologia descrita por (IAL 2008).

4.3.4 Determinação de proteína bruta

O método Kjeldahl, descrito por Tedesco *et al.* (1995) foi utilizado para determinação de proteína bruta nas amostras deste trabalho. De acordo com Souza *et al.*, (2000) e Silva (1998) este método é largamente utilizado em nível mundial e baseia-se na análise de nitrogênio total contido nas amostras, incluindo o nitrogênio proteico propriamente dito e outros compostos nitrogenados como ácido nucléicos, ureia, nitratos etc. O teor de proteína foi obtido em função do nitrogênio, multiplicando o mesmo por um fator de 6,25.

4.4 INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ

Foram realizados testes de toxicidade frente à *Artemia salina* Leach de partes do fruto (semente, casca, polpa externa e interna) e da folha do cuité, segundo adaptação da metodologia descrita por Meyer *et al.*(1982).

Foram utilizados cistos de *A salina* que foram incubados em recipiente retangular de vidro com dimensões 4,9 x 15,1 x 10,4 cm, com divisória contendo furos uniformemente distribuídos de aproximadamente 1,5 mm (Figura 8). Os cistos foram colocados em uma das partes do recipiente e incubados em solução com concentração de 38 g.L⁻¹ (assemelhando-se a água do mar) sob iluminação artificial, feita com lâmpada incandescente de 40W, por 48 horas. A parte do recipiente contendo os cistos foi coberta com papel preto, para que as larvas, após eclosão, fossem atraídas pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar a divisória, por serem fototrópicas positivas, migram em direção à luz, e posteriormente coletadas com auxílio de pipeta de Pasteur.

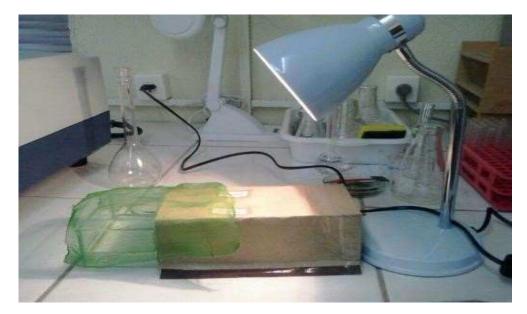


Figura 8 - Incubadora de vidro com divisória, coberta parcialmente, sob iluminação

Fonte: Autoria própria

As amostras (casca, polpa externa e interna do fruto e folhas) foram transferidas separadamente para um erlenmeyer e, acrescentado etanol 95 %, os recipientes foram lacrados com filme de PVC, e depois cobertos com papel alumínio (Figura 9). Após esse procedimento foi necessário aguardar por 72horas para utilização dos extratos.



Figura 9- Erlenmeyer coberto contendo extrato

Fonte: Autoria própria

Os extratos foram solubilizados e preparados nas concentrações de 1200, 1000, 500, 100, 50 e 5 µg.mL⁻¹.

Os testes foram realizados em triplicatas, para todas as concentrações diferentes mais o teste controle. Cada tubo de ensaio continha os extratos em suas perspectivas concentrações e 10 *A.salina* ativas, totalizando 30 para cada concentração de extrato analisado. Após 24 horas foi feita a contagem para a análise do número de organismos mortos, seguida da determinação da CL₅₀ (concentração que produziu 50% de letalidade). Foram consideradas larvas mortas todas as que não apresentavam qualquer movimento normal em cerca de 10 segundos de observação.

Seguindo a contagem dos organismos mortos, foi efetuado o cálculo da concentração que causou a morte de 50% dos organismos testados (CL₅₀) por análise PROBIT com software *Statistic* 8.0, assim como o seu intervalo de confiança (95%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO FRUTO DO CUITÉ

A qualidade dos frutos é atribuída aos caracteres físicos que respondem pela aparência externa, entre os quais se destacam o tamanho, a forma do fruto e a cor da casca (CHITARRA e CHITARRA, 1990).

A Tabela 2 apresenta os valores das massas do fruto do cuité. Avaliou-se separadamente a massa da polpa externa, polpa interna (com sementes) e casca, com o intuito de calcular a porcentagem correspondente a cada parte em relação ao peso total do fruto.

Segundo os dados, o valor médio encontrado para a massa total do fruto foi de aproximadamente 4,000 kg, variando de um valor mínimo de 2,275 kg, a um máximo de 7,645 kg. A massa média da polpa externa foi 0,972 kg e a polpa interna juntamente com as sementes apresentou um pouco mais que o dobro da massa da polpa externa (2,375 kg). A casca apresentou massa variando de 0,295 a 0,955 kg com média de 0,592 kg. A massa total do fruto constitui-se de aproximadamente 25 % de polpa externa, 60 % de polpa interna e sementes e, 15 % de casca. Estes valores mostram que a maior parte do fruto, cerca de 85 %, é composto de polpa (externa e interna) e sementes, estes quase sempre são descartados ou pouco aproveitado.

A falta de estudos relacionados às possíveis formas de aproveitamento, informações a respeito de sua toxicidade e divulgação destes resultados, associado à cultura popular possivelmente pode limitar o uso da polpa do fruto. O uso quase sempre está associado a propriedades medicinais que esta apresenta, restando a maior utilização apenas da casca para fabricação de utensílios domésticos, musicais, artesanatos, etc (LORENZI, 2002).

Tabela 2- Valores das massas dos frutos do cuité (Crescentia cujete Linn)

Massa	Valor	Valor	Média [*]	(%)
(kg)	Mínimo	Máximo		
Polpa externa	0,218	2,765	0,972 <u>+</u> 0,732	24,68
Polpa interna	1,560	3,985	2,375 <u>+</u> 0,895	60,29
Casca	0,295	0,955	$0,592 \pm 0,216$	15,03
Total	2,275	7,645	3,939 <u>+</u> 1,677	100,00

Média seguida do desvio padrão

Tabela 3 - Biometria dos frutos do cuité (Crescentia cujete L.)

Características físicas	Valor	Valor	Média [*]
	Mínimo	Máximo	
Comprimento (cm)	17,40	25,50	21,60 ± 3,0
Largura (cm)	17,30	25,00	21,20 <u>+</u> 2,7
Relação (C/L)	0,90	1,20	1,00 <u>+</u> 0,1
Circunferência (cm)	48,60	79,50	64,60 <u>+</u> 12,4
Espessura da casca (cm)	0,30	0,40	0.35 ± 0.1
Espessura da polpa externa (cm)	2,88	9,31	5,21 <u>+</u> 2,42

* Média seguida do desvio padrão

A Tabela 3 apresenta os resultados das dimensões dos frutos. As amostras de frutos analisadas apresentaram um comprimento médio de aproximadamente 21 cm e uma altura média também de 21 cm. Calculado a relação entre o comprimento e a largura (C/L) evidencia-se o formato arredondado do fruto, uma vez que este valor médio foi igual à unidade. De acordo com Lorenzi (2002), os frutos do cuité podem chegar até 30 cm de diâmetro e podem ser oval ou quase globular. Os frutos analisados foram colhidos aleatoriamente em períodos e estado de maturação divergente, o que resulta em valores não muito próximos.

A circunferência encontrada para os frutos variou de 48,60 a 79, 50 cm, com valor médio de 64,60 cm. Os valores da espessura das cascas não apresentaram muita variação, o valor médio encontrado foi de 0,35 cm, variando de 0,30 e 0,40 cm. E o valor da espessura

da polpa externa foi em média de 5,21 cm, sendo todo o restante central do fruto constituído de polpa interna onde são encontradas as sementes.

5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ

A Tabela 4 apresenta os resultados da caracterização química do fruto, os dados são relativos ao teor de água, pH, acidez titulável e proteína bruta nas amostras de casca, polpa externa, polpa interna e sementes dos frutos e também das folhas de *Crescentia cujete* Linn.

Tabela 4- Caracterização química do fruto e folhas do cuité (Crescentia cujete Linn)

	Fruto				
	Casca	Polpa externa	Polpa interna	Semente	Folhas
Teor de água (%)	45,62 <u>+</u> 1,47	88,06 <u>+</u> 2,13	89,20 <u>+</u> 0,20	74,07 <u>+</u> 2,18	56,37 <u>+</u> 2,16
pН	6,22 <u>+</u> 0,04	5,29 <u>+</u> 0,01	4,88 <u>+</u> 0,25	5,73 <u>+</u> 0,03	6,12 <u>+</u> 0,01
Acidez titulável (%)	9,2 <u>+</u> 0,28	$3,3 \pm 0,42$	$5,6 \pm 0,10$	$3,1 \pm 0,14$	9,4 <u>+</u> 0,28
Proteína Bruta (%)		3,58	<u>+</u> 0,4	9,15 <u>+</u> 0,2	

O teor de água médio apresentado para a casca do fruto foi de 45,62 %. Esses valor é próximo ao encontrado por Gondim *et al.* (2005) em estudo da composição centesimal e de minerais em cascas de frutas, que encontraram um valor de 49,10 % para a casca da tangerina (*Citrus reticulata*). A polpa externa e polpa interna apresentaram valores altos e muito próximos de teor de água (88,06 e 89,20%, respectivamente). Os frutos jovens de cabaça têm a casca tenra e pubescente e polpa com alto teor de umidade. Quando maduros, tornam-se glabros com casca grossa e lignificada, o que a torna impermeável (Whitaker & Davis, 1962).

Com relação ao teor de água encontrado para as sementes, nota-se que estas apresentaram um valor de 74,07 %. Storck *et al.* (2013) em estudo sobre composição nutricional e aproveitamento para alimentação de folhas, talos, cascas e sementes de vegetais

encontram um valor de 75,9 % de teor de água para a semente da moranga (*Cucurbita maxima* Duch). E nas folhas foi encontrado um valor de umidade de 56,37 %.

Os valores de pH encontrados foram: casca (6,22), polpa externa (5,29), polpa interna (4,88), sementes (5,73) e folhas (6,12), o que confere as amostras um caráter levemente ácido. A folha e a casca apresentaram um maior percentual de acidez titulável (9,4 e 9,2 %, respectivamente), seguido da polpa interna que apresentou 5,6 %. O menor valor de acidez foi encontrado para a semente que exibiu um valor de 3,1 %.

As sementes apresentaram um alto valor proteico (9,15 % de proteína bruta) e a polpa (externa e interna, sem as sementes) apresentou um valor pouco menor que 4 %. Flórez (2012) destaca que devido ao alto teor de proteínas da polpa do fruto, ela pode tornar-se uma alternativa para a alimentação de bovinos. Pressupõem-se então que este elevado teor descrito refere-se à polpa e sementes concomitantemente, uma vez que não seria interessante, do ponto de vista prático, a retirada das sementes antes da polpa ser ofertada aos animais, mas o autor não deixa claro se a polpa foi analisada com ou sem sementes.

5.3 INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DO FRUTO E FOLHA DO CUITÉ

Os resultados com o teste de toxicidade frente à *A. salina* do extrato etanólico da casca, polpa externa, polpa interna e semente do fruto e folhas de *Crescentia cujete* estão descritos na Tabela 5, onde a mesma apresenta o número de *A. salina* vivas após 24 h de exposição aos extratos nas concentrações de 1.200, 1.000, 500, 100, 50,5 µg.mL-¹.

Tabela 5 - Contagem de *Artemia salina* vivas após 24 h de exposição ao extrato etanólico da casca, polpa externa, polpa interna e semente do fruto e folhas de *Crescentia cujete*

Concentração	N° de A.		Polpa	Polpa		
do extrato	salina	Casca	externa	Interna	Semente	Folha
$(\mu g.mL^{-1})$	exposta					
1200	30	29	29	-	-	-
1000	30	30	29	29	27	-
500	30	30	30	29	28	-
100	30	30	30	30	29	29
50	30	30	30	30	29	30
5	30	-	-	-	-	30

Não houve morte de nenhuma *A. salina* no teste controle, o que mostra que o solvente utilizado é inofensivo a este microcrustáceo, e as mortes foram resultantes unicamente da ação dos extratos etanólicos de *Crescentia cujete*.

Feita a análise de próbitos com software *Statistic*, com os dados presentes na Tabela 5, encontrou-se valores de CL₅₀ para os diferentes extratos estudados e seus respectivos intervalos de confiança 95%. Os valores de CL₅₀ com os limites de confiança para os extratos etanólicos de casa, polpa externa, polpa interna e sementes do fruto de *Crescentia cujete* são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de CL_{50} com os limites de confiança para os extratos etanólicos de casa, polpa externa, polpa interna e sementes do fruto de $Crescentia\ cujete$

	$CL_{50}(_{\mu g.mL}^{-1})$	Intervalo de confiança 95%		
		Inferior	Superior	
Casca	12.165,30	1.971,16	22.359,44	
Polpa externa	12.769,49	8.370,81	17.168,16	
Polpa Interna	11.651,31	9.027,02	14.275,59	
Semente	6.416,67	5.761,993	7.071,351	

Para a casca do fruto encontrou-se um valor de CL_{50} igual a $12.165,30 \,\mu g.mL^{-1}$. A polpa externa apresentou CL_{50} igual a $12.769,49 \,\mu g.mL^{-1}$, a polpa interna CL_{50} de $11.651,31 \,\mu g.mL^{-1}$ e a semente CL_{50} de $6.416,67 \,\mu g.mL^{-1}$. Dos quatro extratos etanólicos analisados todos apresentaram valor superior a $CL_{50} > 1000 \,\mathrm{ppm}$, indicando assim que os extratos do fruto de *Crescentia cujete* não são tóxicos de acordo com a metodologia de referência utilizada para o teste (Meyer *et al.*, 1982).

O valor de concentração CL₅₀ apresentado pela casca do fruto foi bem próximo ao apresentado pela polpa externa (parte mais próxima da casca e que não contem sementes), que por sua vez foi o maior valor apresentado pelos extratos estudados. Como pode ser observado na Tabela 5, ocorreu a morte de *A. salinas* apenas nas concentrações de 1.200 μg.mL⁻¹ para a casca e 1.200 e 1.000 μg.mL⁻¹ para a polpa externa, o que mostra que o extrato da casca e da polpa externa são inofensivos a este microcrustáceo e a morte de apenas 1 *Artemia salina* ressalta ainda mais a sua não toxicidade.

Martins e Almeida (2012) realizaram estudo fitoquímico do extrato bruto etanólico da polpa do fruto do cuité. Na análise do extrato os autores observaram reação positiva para as seguintes classes de metabólitos secundários: ácidos orgânicos, açúcares redutores, saponinas espumíticas, alcaloides, fenóis e taninos e concluíram que de acordo com a literatura a presença de alcaloides indica certo grau de toxicidade, o que em excesso pode levar danos à saúde e que sendo utilizado em período gestacional pode ser que leve ao aborto, porém mesmo com os testes desenvolvidos ainda não é possível afirmar o grau de toxicidade e testes mais específicos serão necessários.

Embora pesquisas considerem a polpa do fruto *Crescentia cujete* abortiva para caprinos, classificando-a como tóxica, a mesma não apresentou toxicidade diante das condições analisadas, no entanto, bioensaios mais específicos devem ser encorajados, a fim de confirmar estas conclusões.

As sementes do fruto apresentaram a menor concentração CL_{50} , de acordo com a Tabela 5 ocorreu à morte de A. salina, mesmo que em número pequeno, em todas as concentrações testadas, o que pode indicar que, de todos os extratos analisados este merece maior destaque e atenção no que se refere à toxicidade.

Devido ao fato do teste de toxicidade ter sido realizado apenas com três concentrações do extrato de folhas de *Crescentia cujete* (100, 50 e 5 µg.mL⁻¹), não foi possível calcular o valor de CL₅₀.

6. CONCLUSÕES

A massa total do fruto constitui-se de aproximadamente 25 % de polpa externa, 60 % de polpa interna e sementes, e 15 % de casca. Estes valores mostram que a maior parte do fruto, cerca de 85 %, é composto de polpa e sementes, que quase sempre é descartado ou pouco aproveitado.

O teor de água médio apresentado para a casca do fruto foi de 45,62 %; para a polpa externa 88,06 %; polpa interna 89,20 %, para as sementes 74,07 % e, nas folhas foi encontrado um valor de teor de água de 56,37 %.

Para a casca do fruto encontrou-se um valor de CL_{50} igual a $12.165,30 \,\mu g.mL^{-1}$. A polpa externa apresentou CL_{50} igual a $12.769,49 \,\mu g.mL^{-1}$, a polpa interna CL_{50} de $11.651,31 \,\mu g.mL^{-1}$ e a semente CL_{50} de $6.416,67 \,\mu g.mL^{-1}$. Dos quatro extratos etanólicos analisados todos apresentaram valor superior a $CL_{50} > 1000 \,ppm$, indicando assim que os extratos do fruto de *Crescentia cujete* não são tóxicos.

7. REFERÊNCIAS

ALVES, J. D; COSTA, D. A; OLIVEIRA F.S. Estudo da toxicidade *Sida Santaremnensis* através do teste com *Artemia salina* Leach. **65^a Reunião Anual da SBPC.2014.**Disponívelem:http://www.sbpcnet.org.br/livro/65ra/resumos/resumos/9136.htm> Acesso em: 02 out 2015.

ASSIS, T. S; MEDEIROS, R. M; ARAÚJO, J. A; DANTAS, A. F; RIET-CORREA, F. Intoxicações por plantas em ruminantes e equídeos no Sertão Paraibano. **Pesq. Vet. Bras**. vol.29 no.11 Rio de Janeiro nov. 2009. Disponível em:< http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2009001100010>. Acesso em 19/04;2015.

ANDRADE, M. R. L; COSTA, F. B; SILVA VALADÃO, J; SILVA, L. L. W. V; OLIVEIRA, G. L. (2013, MAY). USO DE frutos de *Terminalia catappa* Linn na alimentação: teor de minerais e toxicidade. **In** *ENCIPRO-Simpósio de Produtividade em Pesquisa e Encontro de Iniciação Científica do IFPI*.

BEDNARCZUK, V.O.; VERDAM, M.C.S.; MIGUEI, M.D; MIGUEI, O.G. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais .**Revista Visão Acadêmica**, v.11, n.2, p. 01 Dez. 2010. Disponível em: http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/academica/article/ viewArticle/ 21366>.Acesso em 14 abr.2015.

BASTOS, M. A. Ecos burilados:arte que transforma cabaças em livros circulares. **Extraprensa**.2010.Disponívelem:http://www.revistas.usp.br/extraprensa/article/view/77228/0. Acesso em: 24. set.2015.

CECHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos-2ª ed.-Campinas, SP: Editora da Unicamp,2003.p 01-16.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/Faepe, 1990. P. 320.

CAMURÇA, V. A.; MONTEIRO, V. B.; RODRIGUES, S. T. Plantas medicinais utilizadas na medicina etnoveterinária praticada na ilha do Marajó. Março, 2012. **Embrapa**. Documentos 380 ISSN 1983-051.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA, M. C. C.; VELANDIA, J. R.; HEVARRIA, A. Síntese de 3,5-Triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* Leach, **Química nova**, V. 23, p. 20-22, 2000.

CRESCENTIA CUJETE, FAMILIA DAS BIGNONIACEAE. Disponível em : http://www.colecionandofrutas.org/crescentiacujete.htm. Acesso: setembro de 2015.

DOKMAI, D.; ERIC, D. A. GREEN ORB BUT NOT A POMEL; Thoughts and Advice from a Tropical Botanical Garden in Chiang Mai, Thailand. **Text & Photo**. November 8, 2011. Disponível em:https://dokmaidogma.wordpress.com/>. Acesso setembro 2015.

FLÓREZ, E.J; Evaluation of pulp of totumo (*Crescentia cujete* Linn) Ensilada in two states of maduration likealternative in nutrition bovina. **Temas agrários** ISSN: 01227610 - vol. 17:(1) enero - julio 2012 (44 - 51).

GARCIA, A.; TEIXEIRA, O. M.; SALLES, F. G.; VITAL, J.P.; PEIXOTO, D.S. Bioensaio *Artemia salina* para detecção de toxinas em alimentos vegetais, Goiânia, v. 36, n. 5/6,p.795-808,maio/jun.2009. Disponível em: http://seer.ucg.br/index.php/estudos/article/view Article/1130 >. Acesso em 14/04/2015.

GONDIM, A.M.; MOURA, M. F; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, S. R.; SANTOS, K.M. Composição Centesimal e de minerais em Cascas de frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment,** Campinas, 25(4): 825-827, out.-dez. 2005.

GOMES, E. C.; ELPO, E. R. S.; GABRIEL, M. M.; LOPES, M. Plantas Medicinais com características tóxicas usadas pela população de Morretes, PR. **Revista Visão Acadêmica**, Curitiba, vol.2,n.2,p.77-80, Jul-Dez/2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. Coordenadores: Odair Zenebon; Neus Sadoco Pascuet & Pablo Tigea. São Paulo, Ed. 4, 1ª Edição Digital, 2008.

LIMA, et al. Caracterização Centesimal de Maxixe e sua Aplicação na Produção de Picles. **Alim. Nutr**., Araraquara v.17, n.4, p. 407-412, out./ dez. 2006. DISPONÍVEL EM:http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/297>.Acesso em: 02 out 2015.

LHULLIER, C.; HORTA, P. A; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para artemia salina. **Revista Brasileira de Farmacognosia;** 16 (2):158-163, Abr./Jun.2006. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v16n2/v16n2a05.pdf>. Acesso em: 22. Maio.2015.

LORENZI, H.; ABREU, F. J; **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas.** -Nova Odessa SP; Instituto Plantarum, 2002 p 86-87.

MEYER, B. N; FERRIGNI, N. R; PUTNAN, J. E; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCL.; AUGHLIN, J. BRINE. S. A convenient general bioassay for active plant constituents. **Articleinplantamedica**. 1982 Disponível em: < http://www.researchgate.net/publication/51380045>. Acesso em: 02 out 2015.

MACHADO, K. Z. Avaliação da toxicidade de plantas ornamentais frente ao teste com *Artemia salina* Leach. 2003. Tese (Química habilitação bacharelado). Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/105040. Acesso em: 14 ab. 2015.

MARTINS, L.; ALMEIDA, A. Estudo fitoquímico e toxicidade reprodutiva em ratas grávidas da poupa de crescentia cujetel.(bignoniaceae). Disponível em: < http://www.bionorte.org.br/banco-de-competencias/producaodetalhes.htm? idp=334543>. Acesso em 19 Setembro 2015.

MAYORGA, P.; PÉREZ, K. R.; CRUZ, S. M.; CÁCERES, A. Comparison of biossays using the anostracan crustacean Artemia Salina and thamnocephalus platyurus for plant extract toxicity screening. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20 ,p.897,2010. Disponível em:< http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2010005000029> .Acesso em: 06 out 2015.

NASCIMENTO, J. E.; MELO A. F. M.; SILVA, T. C.; FILHO, F.; SANTOS, E. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de Artemia salina Leach. de três espécies medicinais do gênero Phyllanthus (Phyllanthaceae). **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.2, p. 145-150, 2008 ISSN 1808-4532

.

OZAKI, A.T.; DUARTE, C.P. Fitoterápicos utilizados na medicina veterinária, em cães e gatos. **Infarma**,v.18, nº 11/12, 2006. Disponível em: http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/11/infarma06.pdf, Acesso: setembro de 2015.

OKUYAMA, C.; OLIVEIRA, A. F.; BARBOSA, R. S. Avaliação toxicológica de compostos bioativos e insumos farmacêuticos. **I jornada de Iniciação Científica e tecnológica uniban**. 2008 Disponível: < http://www.uniban.br/pesquisa/ iniciacao_cientifica/pdf/ ciencias_vida /farmácia /avalia_toxico_farmaceuticos.pdf.> Acesso: setembro de 2015.

OLIVEIRA, G. L. (2013, May). Uso de frutos de *Terminalia Catappa Linn* na alimentação: teor de minerais e toxicidade. **In ENCIPRO**-Simpósio de Produtividade em Pesquisa e Encontro de Iniciação Científica do *IFPI*. Disponível em: http://ocs.ifpi.edu.br/index.php/encipro/encipro_2013/paper/view/37>.Acesso em Out.2015.

SILVA, A. P. V; MELO, M. L. P.; MAIA G. A.; OLIVEIRA, G.S.F.; FIGUEIREDO R. W. Caracterização físico-química da amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) crua e tostada. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. vol. 18 n. 2 Campinas May/July 1998. ISSN 1678-457X.

STORCK, C. R.; NUNES, G.L.; OLIVEIRA, B.; BASSO, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Cienc. Rural** vol.43 no.3 Santa Maria mar. 2001.

SOUZA, W. J. O.; MELO, W. J. Teores de nitrogênio no solo e nas frações da matéria orgânica sob diferentes sistemas de produção de milho. **R. Bras. Ci. Solo**, *24:885-896*, *2000*. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v24n4/20.pdf>. Acesso em: 02 out 2015.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. Análises de solos, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, **Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia**, 1995. 174p.Disponível em: http://pt.scribd.com/doc/41082320/Tedesco-et-al-1995scribd>. Acesso em: 02 out 2015.

Território do Curimataú: Resumo Executivo Plano Territorial de Desenvolvimento Rural Sustentável – PTDRS Território do Curimataú-PB. Paraíba,2010. Disponível em: https://sit.mda.gov.br/download/ptdrs/ptdrs_qua_territorio160.pdf. Acesso: 06 ago. 2015.

WHITAKER, T. W.; DAVIS G. N.1962. Cucurbits-botany, Cultivation and utilization. Leonard Hill, London, United Kingdom. 249 pp.

PHILIPPINE MEDICINAL PLANTS. Last Update April 2014. Disponível em:http://www.stuartxchange.com/Cujete.html. Acesso em: Out.2015.