



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

DAYANA MOREIRA LEITE

COMPOSIÇÃO FÍSICA, QUÍMICA, TOXOCIDADE E APROVEITAMENTO
ALTERNATIVO DA *Terminalia catappa* Linn

CUITÉ – PB
2015

DAYANA MOREIRA LEITE

**COMPOSIÇÃO FÍSICA, QUÍMICA, TOXOCIDADE E APROVEITAMENTO
ALTERNATIVO DA *Terminalia catappa* 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

CUITÉ - PB

2015

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

L533c Leite, Dayana Moreira.

Composição física, química, toxicidade e aproveitamento alternativo da *Terminalia Catappa Linn.* / Dayana Moreira Leite. – Cuité: CES, 2015.

41 fl.

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

Orientadora: Ana Regina Nascimento Campos.

1. Biometria. 2. *Artemia salina*. 3. Identificador de Ph. I. Título.

CDU 54

DAYANA MOREIRA LEITE

COMPOSIÇÃO FÍSICA, QUÍMICA, TOXOCIDADE E APROVEITAMENTO
ALTERNATIVO DA *Terminalia catappa* Linn

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

Aprovada em ____/____/2015

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Ana Regina Nascimento Campos (Orientadora)

UFCG/CES/UABQ

Prof Dr Renato Alexandre Costa de Santana

UFCG/CES/UABQ

Me. Mislene Pereira Lins

UFCG/CES/UABQ

AGREDECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida.

Aos meus pais, e a toda minha família pelo amor, incentivo, força e apoio apesar das dificuldades.

Dedico especial agradecimento à professora e orientadora Dra. Ana Regina Nascimento Campos, pelo empenho, dedicação à elaboração deste trabalho, apoio, confiança e, pela oportunidade.

A todos os meus professores ao longo da minha vida acadêmica até chegar neste momento, eles foram muito importantes na minha vida.

Meus agradecimentos aos amigos: Aline de Lima, que desde o início sempre esteve presente em todos momentos até a realização deste trabalho; Luana Magalhães, pela paciência e apoio; Débora Emanuelle, em momentos difíceis sempre esteve próxima; Cecília Azevêdo em ocasiões de dificuldade sempre prestativa; colegas de Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos: Mônica, Ana Paula, Daniel, Anderson e Débora companheiros que fizeram parte da realização desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos a todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação.

O coração do que tem discernimento
adquire conhecimento;
os ouvidos dos sábios
saem à sua procura.
Provérbios 18:15

RESUMO

Originária da Índia, a castanhola, cujo nome científico é *Terminalia catappa* Linn, uma espécie da família das Combretáceas, é uma árvore exótica distribuída nas regiões costeiras e bem adaptada às condições de clima e solos do Brasil, inclusive no semiárido nordestino. Embora seja bem difundida em solo brasileiro, estudos sobre a referida espécie ainda são bastante escassos na literatura. Componentes químicos presentes na *T. catappa* podem ser benéficos farmacologicamente, porém pode vir a apresentar toxicidade para animais que venham utilizá-la como alimento. Este trabalho teve como objetivo caracterizar física e quimicamente o fruto e, avaliar o potencial toxicológico das folhas da castanhola (*Terminalia catappa* Linn) utilizando o bioensaio com *Artemia salina* Leach, além de verificar a possibilidade de uso da polpa do fruto como identificador natural de ácidos e bases. Todas as análises foram desenvolvidas no Laboratório de Bioquímica e Biotecnologia de Alimentos (UFPA/CES). Os frutos de castanhola utilizados para o referido estudo foram coletados de árvores adultas das vias públicas da cidade de Cuité – PA, situada na região do Curimatá Paraibano. As características físicas do fruto *in natura* determinadas no estudo foram: massa total, massa da polpa, massa do caroço, massa da amêndoa, altura, largura e densidade em água e óleo. Foram realizadas análises químicas de teor de água, pH, acidez titulável, resíduo mineral, °Brix e teores de minerais. Utilizou-se extratos alcoólico e aquoso da polpa do fruto da castanhola para identificação de diferentes pHs, por visualização de coloração. Também se determinou a concentração letal 50% (CL₅₀) do extrato etanólico da folha da castanhola, como parâmetro de toxicidade. A polpa do fruto da castanhola apresentou teor de água de 87,39 %, pH de 4,67, acidez titulável de 9,3% e a folha da castanhola apresentou teor de água de 77,31 %, pH de 4,57 e acidez titulável de 10,29%. O teor de sólidos solúveis para o fruto da castanhola 7,75°Brix. A folha da castanhola apresentou altos valores de minerais, destacando-se o K (41,24%), Ca (32,84%) e o Fe (15,02%), sendo estes teores consideravelmente acentuados para a alimentação. Os extratos brutos (alcoólico e aquoso) da polpa do fruto da castanhola assumem diferentes colorações que podem ser identificadas por observação visual, definindo-se escalas de pH em função da cor da solução resultante. Para a folha da castanhola encontrou-se um valor de CL₅₀ igual a 452,573 µg.mL⁻¹. Deste modo a avaliação de toxicidade testada frente a *A. salina* mostrou toxicidade moderada, no entanto bioensaios mais específicos devem ser encorajados, a fim de confirmar estas conclusões.

Palavras-chave: Biometria; *Artemia salina*; Identificador de pH; Castanhola

ABSTRACT

Originally from India, the castanets, whose scientific name is *Terminalia catappa* Linn, a species of the family of Combretáceas, is an exotic tree distributed in coastal regions and well adapted to the climate conditions and soils of Brazil, including in the semi-arid northeast. While it is widespread in Brazilian soil, studies of the species are still quite scarce in the literature. Chemical components present in *T. catappa* pharmaceutically can be beneficial, but may come to present toxicity to animals that may use it as food. This study aimed to characterize physically and chemically the fruit and assess the toxicological potential of castanets leaves (*Terminalia cappata* Linn) using the bioassay Leach brine shrimp, and to identify the possibility of using the pulp of the fruit as natural acid identifier and base. All analyzes were performed at the Laboratory of Biochemistry and Biotechnology of Food (UFCEG /CES). Castanet of the fruits used for this study were collected from adult trees of public roads in the city of Cuité - PB, located in Curimataú region. The physical characteristics of the fruit *in natura* determined in the study were: total mass, pulp mass, core mass, almond mass, height, width and density in water and oil. Chemical analysis of water content were held, pH, titratable acidity, mineral residue, ° Brix and mineral contents. We used alcohol and aqueous extracts of castanet the fruit pulp to identify different pHs, for color display. Also determined the lethal concentration 50% (CL₅₀) of the ethanol extract of the leaf castanets, as a parameter of toxicity. The pulp of the fruit of the castanet presented 87.39% of water content, pH of 4.67, a titratable acidity of 9.3% and the sheet showed a castanet water content 77.31%, pH 4.57 and titratable acidity of 10.29%. The soluble solids content for the fruit of castanets 7.75 ° Brix. The sheet showed high castanet mineral values, especially K (41.24%), Ca (32.84%) and Fe (15.02%), and these yields considerably sharp for feeding. The crude extract (alcoholic and aqueous) of the castanet fruit pulp assume different colorings that can be identified by visual observation, if definindo- pH ranges depending on the color of the resulting solution. For leaf castanets found yourself a CL₅₀ value of 452.573 µg.mL⁻¹. Thus the evaluation of toxicity tested opposite saline A. showed moderate toxicity, but more specific bioassays should be encouraged to confirm these findings

Keywords: Biometrics; *Artemia salina*; pH identifier; Castanets

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Castanhola (<i>Terminalia catappa</i> Linn) do município de Cuité, PB	13
Figura 2. Folhas da castanhola. A. Folhas de coloração verde. B. Folhas amarelas e vermelhas	14
Figura 3. Fruto da castanhola <i>Terminalia catappa</i> Linn	15
Figura 4. Fruto de <i>Terminalia catappa</i> Linn (Altura, largura e espessura).....	21
Figura 5. Densidade obtida a partir da imersão do fruto em proveta contendo óleo e água, respectivamente	22
Figura 6. Filtração do extrato aquoso da polpa do fruto da castanhola.	24
Figura 7. A. Solução alcoólica indicadora. B. Solução aquosa indicadora.	30
Figura 8. Soluções contendo extrato alcoólico de polpa do fruto da castanhola funcionando como identificador de pH	31
Figura 9. Soluções contendo extrato aquoso de polpa do fruto da castanhola funcionando como identificador de pH	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Algumas aplicações medicinais da <i>T. catappa</i>	16
Tabela 2. Valores das massas dos frutos da castanhola (<i>Terminalia catappa</i> Linn) coletados na cidade de Cuité – PB.	26
Tabela 3. Valores biométricos e densidades dos frutos da castanhola (<i>Terminalia catappa</i> Linn) coletados na cidade de Cuité –PB.....	27
Tabela 4. Dados da caracterização química da polpa do fruto e folha da castanhola (<i>Terminalia catappa</i> Linn)	28
Tabela 5. Teor de Minerais encontrados na castanha da Folha T. Catappa	28
Tabela 6. Extrato alcoólico da polpa do fruto da castanhola: Mudança de coloração das soluções com diferentes pHs	30
Tabela 7. Extrato aquoso da polpa do fruto da castanhola: Mudança de coloração das soluções com diferentes pHs	32
Tabela 8. Contagem de <i>Artemia salina</i> mortas após 24 h de exposição ao extrato etanólico da folhas da castanhola <i>Terminalia catappa</i> Linn.	34
Tabela 9. Valores de CL ₅₀ com os limites de confiança para o extrato etanólico da folha da castanhola (<i>Terminalia catappa</i> Linn)	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 REFERENCIAL TÉORICO	13
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	13
Tabela 1. Algumas aplicações medicinais da <i>T. catappa</i>	16
3.2 TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia Salina</i> Leach	17
3.3 INDICADORES DE pH	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 LOCAL E COLHEITA DOS FRUTOS	20
4.2 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO FRUTO <i>IN NATURA</i> DA CASTANHOLA	20
4.3 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA POLPA DO FRUTO E FOLHAS DA CASTANHOLA.....	22
4.3.1 Determinação do Teor de Água	22
4.3.2 Determinação do Resíduo Mineral.....	22
4.3.3 Determinação do pH.....	23
4.3.4 Determinação da Acidez Titulável.....	23
4.3.5 Determinação do °Brix.....	23
4.3.6 Determinação dos minerais por EDX.....	23
4.4 PREPARAÇÃO DO IDENTIFICADOR NATURAL DE ÁCIDO E BASE A PARTIR DA POLPA DO FRUTO DA CASTANHOLA	23
4.5 DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DA FOLHA DA CASTANHOLA	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO FRUTO <i>IN NATURA</i>	26
5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA POLPA DO FRUTO E FOLHA	27
5.3 IDENTIFICADOR NATURAL DE ÁCIDO E BASE.....	29
5.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA FOLHA DA CASTANHOLA	34
6. CONCLUSÕES.....	36
7. REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

A *Terminalia catappa* Linn pertencente à família Combretaceae, conhecida como castanholeira, chapéu-de-sol e, mais popularmente como, castanhola. É uma árvore nativa da Índia, com altura variando entre 25 e 45 m. As espécies do gênero *Terminalia* são amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (COLLINS *et al.*, 1992).

Diversos estudos têm sido realizados sobre as propriedades biológicas dessa espécie na saúde humana, são descritas várias atividades como anti-inflamatória, antitumoral, antiviral e antidiabética. As folhas da *T. catappa* são utilizadas para fins terapêuticos aproveitados como forma de bebida (chá) (PETERSON *et al.*, 1978).

A fruta possui polpa comestível, apesar de muitas vezes, não serem aproveitadas, por ser fibrosa e apresentar sabor não muito agradável. Dados sobre a composição química de alimentos não comuns são praticamente insuficientes e a fruta da *T. Catappa* pode vir a constituir uma opção para auxiliar na suplementação de dietas da população. O conhecimento da composição química de alimentos e o valor nutricional destes é de fundamental importância para várias atividades, tais como: o estabelecimento de dietas adequadas, para recomendação de uma alimentação balanceada a grupos populacionais e desenvolvimento de novos produtos (LAJOLO *et al.*, 1995).

Componentes químicos presentes na *T. catappa* podem ser benéficos farmacologicamente, porém pode vir apresentar toxicidade para animais que venham utilizá-la como alimento (MARACAJÁ *et al.*, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar física e quimicamente o fruto e, avaliar o potencial toxicológico das folhas da castanhola (*Terminalia cappata* Linn) utilizando o bioensaio com *Artemia salina* Leach, e verificar a possibilidade de uso da polpa do fruto como identificador natural de ácidos e bases.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar fisicamente o fruto *in natura* da castanhola (massa, densidade e biometria);
- Analisar quimicamente a polpa do fruto e as folhas da castanhola;
- Investigar a utilização da polpa do fruto da castanhola como identificador natural de ácidos e bases;
- Avaliar a toxicidade do extrato etanólico bruto das folhas da castanhola frente à *Artemia Salina* Leach;
- Determinar a concentração letal 50% (CL₅₀) do extrato etanólico como parâmetro de toxicidade.

3 REFERENCIAL TÉORICO

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A *Terminalia catappa* Linn pertencente à família Combretaceae, conhecida como castanholeira, chapéu-de-sol e mais popularmente como castanhola, é uma árvore nativa da Índia. As espécies do gênero *Terminalia* são amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (COLLINS *et al.*,1992).

A castanhola (Figura 1) é bastante utilizada na arborização urbana e rural no Brasil, por ser tolerante a salinidade, adaptável a diferentes solos, incluindo os inférteis e arenosos (DE PAULA, 2008) e ser resistente ao efeito dos ventos, além de fornecer sombra, que é muito útil em regiões quentes como nos litorais. É uma árvore que possui uma copa ampla (GONZÁLES-MENDOZA *et al.*, 2006; THOMSON & EVANS, 2008), com altura variando entre 25 e 45 m (COLLINS *et al.*,1992). O tronco ereto, com casca de coloração parda e áspera e, sua madeira é muito resistente e de boa qualidade (DE PAULA, 2008).

Figura 1. Castanhola (*Terminalia catappa* Linn) do município de Cuité, PB

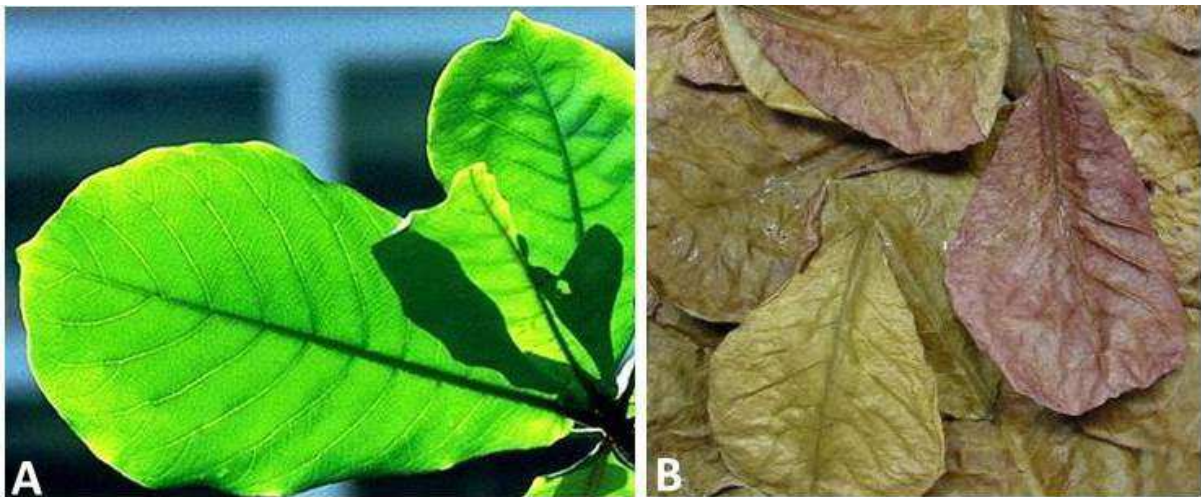


Fonte: Dados da Pesquisa.

As árvores perdem suas folhas uma ou duas vezes ao ano durante os períodos secos, florescem e frutificam anualmente, mas em muitas áreas como no Havaí, Fiji e Tonga, frutificam e florescem continuamente ao longo do ano (THOMSON & EVANS, 2006).

As folhas são de tamanho grande, com formato ovalado e de coloração verde (Figura 2A), no outono antes de caírem mudam de cor, ficando amarelas e vermelhas (Figura 2B), por isso, é utilizada como árvore ornamental (DE PAULA, 2008). Possuem propriedades antioxidantes (CHYAU *et al.*, 2006, LIN, 1992; LIN *et al.*, 1997; CHEN *et al.*, 2000), anticancerígenas (CHEN & LI, 2006), anti-inflamatórias (GAO *et al.*, 2006), analgésicas (RATNASOORIYA *et al.*, 2002), antiparasitárias e antifúngicas (CHITMANAT *et al.*, 2005).

Figura 2. Folhas da castanhola. A. Folhas de coloração verde. B. Folhas amarelas e vermelhas



Fonte: Dados da Pesquisa.

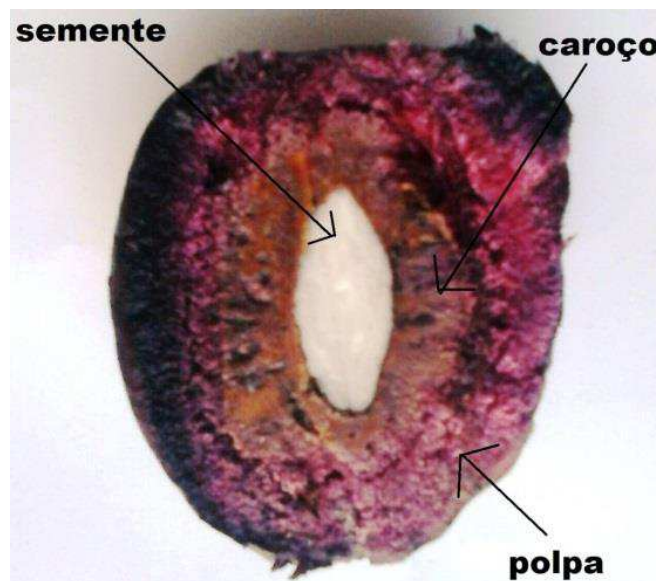
Na Índia e em outros países orientais, as folhas têm sido usadas na medicina popular como antitérmico e, em Taiwan são usadas para prevenir hematomas e no tratamento da hepatite. Ainda há relatos na literatura de outras indicações como cólicas e hemorroidas (LIN, 1992; LIN *et al.*, 1997; CHEN *et al.*, 2000).

Devido à utilização crescente de fitoterápicos na aquicultura, os extratos aquosos das folhas secas têm sido utilizados como opção para o controle de enfermidades (parasitos metazoários e protozoários) nos peixes (CLAUDIANO *et al.*, 2009).

Além de ser amplamente utilizada na área medicinal, as folhas ainda podem ser utilizadas para reduzir o pH da água, através de substâncias liberadas de coloração marrom que são ricas em ácido húmico, ácido tânico e alguns flavonóides, especialmente quercetina (anti-inflamatórios) e kaempferol (como anticoagulante, antialérgico, anti-inflamatório, antivirótico e diurético). Uma única folha em 60 L de água potável com pH inicialmente neutro, baixa o pH para 6,6 em 3 ou 4 dias. (FORMIGARI & FORMOSURA, 2008).

Os frutos da castanhola são comestíveis de coloração verde, passando a amarelo e vermelho quando maduros. É constituído por uma casca ou tecido delgado, pouco esponjoso (exocarpo), pela polpa (mesocarpo) de aspecto carnosos, esponjoso e fibroso (IVANI, 2008) e em seu interior por um caroço duro (endocarpo), contendo a semente comestível (amêndoa), que é revestida por uma película (Figura 3) (VARESCHI, 1979 *apud* GONZÁLEZ-MENDOZA *et al.*, 2006).

Figura 3. Fruto da castanhola *Terminalia catappa* Linn



Fonte: Dados da Pesquisa.

Segundo os dicionários Michaelis (2000) e Ferreira *et al.* (1993), o termo amêndoa pode ser dado aos frutos provenientes de muitas árvores que produzem sementes oleaginosas, incluindo a espécie *T. cattapa*. Esse termo também pode designar o caroço que contém a semente ou qualquer semente contida em caroço. Segundo esses dicionários, os termos noz e

castanha também podem dar nome a esses frutos. A palavra amêndoa é usada neste trabalho para designar a semente oleaginosa comestível desse fruto.

Por ser muito encontrada nos litorais, a castanhola possui adaptações morfológicas do seu fruto que permitem a sua dispersão pelas correntes marinhas por longas distâncias, o caroço é cilíndrico, de casca resistente e fibrosa (NAKANISHI, 1989).

A Tabela 1 mostra algumas aplicações medicinais de *T. catappa*, a parte da planta utilizada e sua aplicação, segundo Formigari & Formosura (2008).

Tabela 1. Algumas aplicações medicinais da *T. catappa*

Parte aproveitada	Indicações
Raiz e casca	Disenteria Febre gástricas e biliares Vermes intestinais
Folha	Antioxidantes, anticancerígenas Anti-inflamatórias Analgésicas, Antiparasitárias Antifúngicas
Óleo doce da amêndoa	Emulsões peitorais
Fruto verde	Adstringente
Fruto maduro	Laxante
Outras indicações	Ejaculação precoce Antiespasmódica, antibiótica Anticarcinogênica, Afrodisíaca Anti-séptica

Fonte: Adaptada de Formigari & Formosura (2008).

SANTOS & TEIXEIRA (2010) usaram o caroço da *T. catappa* Linn como substrato para o cultivo de orquídeas das espécies *Oncidium flexuosum* Sims, *Dendrobium nobile* Lindl e *Brassavola tuberculata* Hook. Foram analisados os seguintes parâmetros: altura da parte aérea, diâmetro dos pseudobulbos, número de pseudobulbos e pH. As orquídeas desenvolvidas em substrato de *T. catappa* e em xaxim apresentaram alturas da parte aérea, diâmetro dos pseudobulbos e número de pseudobulbos equivalentes. O substrato de *T. catappa* mostrou baixa velocidade de decomposição, o que manteve a sua boa capacidade de aeração, desenvolvimento

das raízes e valor de pH próximo ao encontrado para o xaxim e, dessa forma, apresentou-se viável como substituto ao xaxim para o cultivo das orquídeas avaliadas.

Pode-se retirar, da amêndoa da castanhola, óleo comestível de alta qualidade ou transformá-la, ainda, em farinha para uso na alimentação animal (MOREIRA *et al.* 2000). Para estes autores, a castanhola pode vir a proporcionar uma alternativa muito importante no processo de desenvolvimento agroindustrial da região nordeste do Brasil.

Segundo Santos *et al.* (2008), o teor de óleo nas amêndoas é de 49%, o que permite sua exploração econômica. Dessa quantidade de lipídios, 32% são de ácido oléico e 28% de ácido linoléico. Os autores afirmam que o biodiesel produzido a partir da castanhola pode ser utilizado como substituto para o diesel de petróleo.

As flores são em formato de espigas alongadas, com pequenas flores de coloração creme, e ocorrem no verão (FRANCO, 2012).

Componentes químicos presentes na *T. catappa* podem ser benéficos farmacologicamente, porém pode vir a apresentar toxicidade para animais que venham utilizá-la como alimento. Extratos de flores de *T. catappa* foram servidos como alimento para abelhas *Apis mellifera* em ambiente controlado. As abelhas permaneceram vivas até os 19 dias e para as tratadas com 0,25%, 0,50% e 1,0% respectivamente apresentaram mortalidades aos 13, 11 e 10 dias, sugerindo que existe um efeito tóxico do macerado obtido a partir de flores de *T. catappa* as operárias (MARACAJÁ *et al.*, 2010).

3.2 TOXICIDADE FRENTE À *Artemia Salina* Leach

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).

O estudo da toxicidade das substâncias químicas se alcança por meio de experimentos em laboratório utilizando animais. A finalidade dos testes de toxicidade é de prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES & FORBES, 1994).

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).

Dentre esses bioensaios, têm-se a toxicidade sobre *Artemia salina*, que é um microcrustáceo de água salgada frequentemente usada como alimento para peixes. O baixo custo utilizando da *A. salina* favorece o uso em vários estudos e simplicidade com que pode ser manipulado (CASTRO *et al.*, 2010).

Apesar do avanço tecnológico, o método do ensaio de letalidade frente à *A. salina* é muito utilizado e tem permanecido nas publicações científicas. Este ensaio tem a capacidade de determinar dados de grande utilidade de forma rápida, econômica e com reprodutibilidade, e de ser um procedimento simples, devido á estas características, esta metodologia vem sendo utilizada em áreas como síntese de medicamentos, farmacologia, neurologia, química, meio ambiente, ecologia, *screening* biológico e outros (HIROTA *et al.*, 2012).

A *A. salina* está em constante estado de locomoção, pois são animais filtradores que dependem disso para alimentar-se e respirar. Pode reproduzir-se de duas maneiras distintas: viviparamente, na qual ocorre liberação direta de náuplios, ou oviparamente na qual os embriões se desenvolvem até a fase de gástrula e se encapsulam nesse estágio dentro de uma casca interrompendo seu metabolismo e podendo permanecer como cisto durante longo período de tempo. Esse ciclo de vida relativamente curto favorece seu uso em testes de toxicidade aguda e crônica (ASEM, 2008).

A maioria de experimentos que visam testar a toxicidade utilizam modelos baseados em ratos em crescimento, apresentando desvantagens para o método como o gasto de quantidade de amostra e o elevado custo (RIOS, 1995). Estudos comprovam a ação tóxica de várias substâncias naturais ao crustáceo *A. salina* (RIOS, 1995; NASCIMENTO *et al.*, 2008).

3.3 INDICADORES DE pH

Os indicadores ácido-base são substâncias orgânicas, quando fracamente ácidas dizemos que são indicadores ácidos ou quando são fracamente básicas chamamos indicadores básicos. Identificadores visuais são substâncias capazes de mudar de cor dependendo das propriedades físico-químicas da solução na qual estão inseridos, em função de diversos fatores, tais como pH. Podem ser classificados de acordo com o mecanismo de mudança de cor ou os tipos de titulação nos quais são aplicados. Em 1835, Marquat, realizando estudos com diversas espécies vegetais, propôs o termo antocianinas (do grego: *anthos* = flores; *kianos* = azul) para se referir aos pigmentos azuis encontrados em flores. Somente no início do século XX, Willstätter e Robinson relacionaram as antocianinas como sendo os pigmentos responsáveis pela coloração de diversas flores e que seus extratos apresentavam cores que variavam em função da acidez ou alcalinidade do meio (TERCI & ROSSI, 2002).

As antocianinas formam um dos grupos de pigmentos mais amplamente distribuído no reino vegetal. Estes compostos são responsáveis por uma larga faixa de cores da maioria dos vegetais comestíveis, incluindo azul, roxa, violeta, magenta, vermelha e alaranjada (FENNEMA, 1996; MALIEN-AUBERT *et al.*, 2001). Trata-se de corantes naturais com interessantes propriedades que vão além da cor que produzem, pois podem ter diversas aplicações. Para as flores e frutas, a coloração resultante da presença de antocianinas pode representar um fator adicional para atração de agentes polinizadores, o que tem importante papel no ciclo reprodutivo das plantas. Além disso, pode-se considerar que, nas frutas, a presença de antocianinas favoreça o sabor adocicado, pois durante o amadurecimento, ocorre degradação dos corantes com liberação de açúcar. Mas, esses compostos são muito delicados e, por isso, difíceis de serem obtidos a partir de fontes naturais, conservados e aplicados. (UCHIDA, 2014; TERCI & ROSSI, 2002)

A propriedade das antocianinas por apresentarem cores diferentes, dependendo do pH do meio em que elas se encontram, faz com que estes pigmentos possam ser utilizados como indicadores naturais de pH. Foi notado que as antocianinas possuem coloração avermelhada em meio ácido, violeta em meio neutro e azul em condições alcalinas. Atualmente, sabe-se que as antocianinas, pigmentos da classe dos flavonóides, são responsáveis pelas cores: azul, violeta, vermelho e rosa de flores e frutas (TERCI & ROSSI, 2002).

A pigmentação natural presente no fruto da castanhola indica a presença de antocianinas, componentes de natureza fenólica, pertencentes ao grupo dos flavonóides, que

apresentam atividade antioxidante. Os flavonóides possuem um papel fundamental na habilidade para capturar radicais livres e, assim, promover a prevenção de várias doenças (UCHIDA *et al.*, 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

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

Todo material coletado para realização deste trabalho foi obtido de forma aleatória das castanholas (*Terminalia catappa* Linn) situadas nas ruas do município de Cuité – PB, localizado 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. Na classificação de Koppen, o clima é do tipo BSwH', quente semiárido do tipo estepe (TERRITÓRIO DO CURIMATAÚ, 2010).

A obtenção dos frutos e folhas ocorreu nos meses de abril e setembro de 2015 e incluiu uma quantidade entre 20 e 25 frutos coletados. Os frutos foram coletados conforme o estado de maturação em que são consumidos, a coleta foi efetuada de forma direta.

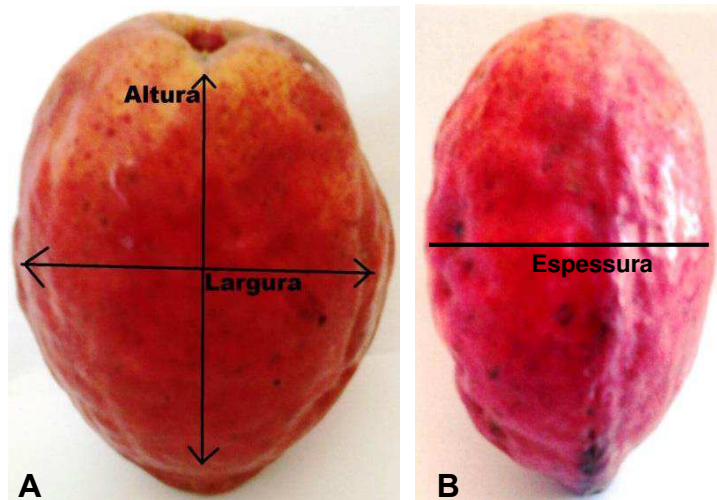
Os frutos foram higienizados em solução de água clorada por 15 minutos, lavados com água corrente e seca em papel toalha absorvente, posteriormente despulpada manualmente com auxílio de faca de aço inox.

4.2 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO FRUTO *IN NATURA* DA CASTANHOLA

As características físicas do fruto *in natura* da castanhola determinadas foram: massa total do fruto, massa da polpa, massa do caroço e massa da amêndoa, usando-se balança analítica Scientech SA 210 e expressas em g.

Para avaliação dos dados biométricos, expressos em mm, relacionados ao eixo no sentido longitudinal (altura), diâmetro maior (largura) e diâmetro menor (espessura) usou-se paquímetro digital Zaas Precision, conforme Figura 4.

Figura 4. Fruto de *Terminalia cattapa* Linn (Altura, largura e espessura)



Fonte: Dados da Pesquisa.

Para determinação da densidade ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$), o volume foi obtido por meio da imersão do fruto inteiro em água contida em proveta graduada e, o volume foi verificado pelo deslocamento da coluna de água. O mesmo procedimento foi repetido substituindo-se água por óleo. A Figura 5 mostra a imersão do fruto em proveta contendo óleo e água, respectivamente.

Figura 5. Densidade obtida a partir da imersão do fruto em proveta contendo óleo e água, respectivamente



Fonte: Dados da Pesquisa.

4.3 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA POLPA DO FRUTO E FOLHAS DA CASTANHOLA

As variáveis químicas determinadas no estudo da polpa do fruto e folhas da *T. catappa* Linn foram:

4.3.1 Determinação do Teor de Água

As amostras foram trituradas, logo após pesou-se aproximadamente 2 g em vidros de relógio, previamente taradas e em triplicata. Posteriormente à pesagem, a amostra foi aquecida em estufa a 105 °C, por 24 h (IAL, 2008). Em seguida, resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente, para depois se efetuar a pesagem final.

4.3.2 Determinação do Resíduo Mineral

Pesou-se aproximadamente 5 g de amostra triturada em balança analítica em cadinhos de porcelana que, posteriormente, foram aquecidas em forno mufla a 550°C, por 4h, e resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesados novamente (IAL, 2008).

4.3.3 Determinação do pH

As análises de pH foram realizadas em aproximadamente 5 g de amostra triturada. As medidas de pH foram feitas em pHmetro Metromhm, calibrado com solução tampão de pH 7,0 e 4,0, e o valor foi determinado através de medidas potenciométricas do líquido sobrenadante (IAL, 2008).

4.3.4 Determinação da Acidez Titulável

A acidez da polpa e da folha foi determinada por volumetria, utilizando-se fenolftaleína como indicador ácido-base. Preparou-se soluções aquosas com 5 g das amostras, previamente triturada, posteriormente adicionou-se 3 gotas de fenolftaleína e titulou-se com solução de NaOH 0,1 M, sob agitação constante (IAL, 2008).

4.3.5 Determinação do °Brix

Para a determinação do °Brix nas amostras, utilizou-se refratômetro de Abbé, com escala graduada de °Brix (pelo menos 0,5%). O equipamento foi inicialmente calibrado com água destilada, em seguida adicionaram-se algumas gotas da amostra e fez-se a leitura. O grau Brix é a medida do índice de refração (IAL, 2008).

4.3.6 Determinação dos minerais por EDX

Os minerais foram identificados e quantificados por Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva, o equipamento utilizado foi o Shimadzu EDX-720 (EDX).

4.4 PREPARAÇÃO DO IDENTIFICADOR NATURAL DE ÁCIDO E BASE A PARTIR DA POLPA DO FRUTO DA CASTANHOLA

Foram realizadas extrações alcoólica e aquosa da polpa do fruto da castanhola. Os extratos foram preparados na proporção 1:3 (m/V), após a extração, os extratos foram filtrados e mantidos em refrigeração até o momento do uso. A Figura 6 ilustra o processo de filtração realizado no preparo do extrato aquoso identificador natural ácido e base.

Com o intuito de testar e validar a eficiência do indicador natural de ácido e base feito a partir da polpa do fruto da castanhola, foram utilizadas as seguintes soluções com diferentes valores de pH: H_2SO_4 (0,1M), NaOH (0,1M) e soluções tampão de pH (4.0, 7.0 e 9.0). Para aferição do pH das soluções teste foi utilizado um pHmetro da Marca Metrohm 744 pH METER.

As soluções tampão certificadas de pH, da marca Merck, utilizadas nos testes são as mesmas usadas na execução da calibração de medidores de pH.

Figura 6. Filtração do extrato aquoso da polpa do fruto da castanhola.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Os experimentos foram realizados em tubos de ensaio, e cada tubo recebeu 5 mL de solução teste e 8 gotas do identificador (aquoso e alcoólico, separadamente). A avaliação foi realizada com base nas características visuais de coloração do identificador em função do valor de pH de cada solução.

4.5 DETERMINAÇÃO DA TOXICIDADE DA FOLHA DA CASTANHOLA

Foram realizados testes de toxicidade frente à *Artemia salina* Leach da folha da castanhola 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. 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 h. 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 à divisória, por serem fototrópicas positivas, migram em direção à luz. Posteriormente, as *A. salinas* que atravessaram a divisória foram coletadas com auxílio de pipeta de Pasteur.

No preparo do extrato foram utilizadas folhas verdes da castanhola que foram colocadas em erlenmeyer e, acrescentado etanol 95%, o recipiente foi lacrado com filme de PVC, e depois cobertos com papel alumínio. Após esse procedimento, foi necessário aguardar por 72h para utilização do mesmo. Para a realização dos testes de toxicidade o extrato foi solubilizado e preparado nas concentrações de 1.200, 1.000, 500 e 100 µg.mL⁻¹.

Para todas as concentrações foram realizados testes em triplicatas e o teste controle. Cada tubo de ensaio continha o extrato e 10 *A. salina* ativas, totalizando 30 para cada concentração. Após 24 h 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 s 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 *IN NATURA*

Segundo Eniel, Martins e Carvalho (2001), estudos de caracterização física de frutos e sementes são importantes porque podem sinalizar diferenças entre espécies de mesmo gênero como também possibilitam comparações de uma espécie que habitam diferentes localidades geográficas.

Os resultados obtidos neste trabalho para os valores de massa dos frutos da castanhola (*Terminalia catappa* Linn) estão exibidos na Tabela 2. A massa média do fruto da castanhola foi de 38,48 g, valor aproximado ao encontrado por Cavalcante *et al.* (1986), que obtiveram um peso médio da fruta inteira de 38,37g, e superior ao encontrado por Marques *et al.* (2012) que foi de 19,60 g. Com relação a massa média do caroço, os mesmo autores obtiveram 20,23 e 7,28 g, respectivamente, valores superiores ao encontrado neste estudo que foi 5,82 g.

Tabela 2. Valores das massas dos frutos da castanhola (*Terminalia catappa* Linn) coletados na cidade de Cuité – PB.

Massa (g)	Valor Mínimo	Valor Máximo	Média*	Rendimento (%)
Total	28,07	48,27	38,48 ± 7,30	100,00
Polpa	21,16	40,37	32,13 ± 6,92	83,50
Caroço	4,60	8,71	5,82 ± 1,14	15,12
Amêndoa	0,37	0,63	0,51 ± 0,07	1,32

* Média seguida do desvio padrão

Na biometria dos frutos, valores apresentados na Tabela 3, os resultados médios relacionados à altura foi de 52,80 mm, largura de 47,24 mm e espessura de 35,07 mm, de modo que se mostraram superiores quando comparados as médias dos valores encontrados por Marques (2012), sendo o comprimento de 43,28 mm, largura de 31,62 mm e espessura de 25,75 mm. Uma possível justificativa para a discrepância entre os resultados encontrados pode estar relacionada à variabilidade, idade da árvore, condições de cultivo, clima, utilização de fertilizantes dentre outros fatores (SOUTO *et al.*, 2008).

A Tabela 3 também apresenta dados referentes à densidade (água e óleo) do fruto inteiro da castanhola. A densidade do fruto da castanhola obtida utilizando a água foi $0,93 \text{ g/cm}^3$, portanto inferior à densidade da água ($1,0 \text{ g/cm}^3$), o que explica o fato que o fruto sobrenadou quando inserido na proveta que continha água. Utilizando-se o mesmo procedimento com óleo de cozinha, obteve-se um resultado $0,99 \text{ g/cm}^3$ para densidade do fruto inteiro e observou-se nesse caso que a castanhola ligeiramente submergiu.

Tabela 3. Valores biométricos e densidades dos frutos da castanhola (*Terminalia catappa* Linn) coletados na cidade de Cuité –PB

Características Físicas	Valor	Valor	Média*
	Mínimo	Máximo	
Altura (mm)	49,44	56,64	$52,80 \pm 2,36$
Largura (mm)	42,15	51,13	$47,24 \pm 2,96$
Espessura (mm)	30,60	38,93	$35,07 \pm 2,82$
Densidade H_2O (g.cm^{-3})	0,92	0,95	$0,93 \pm 0,02$
Densidade óleo (g.cm^{-3})	0,92	1,05	$0,99 \pm 0,06$

* Média seguida do desvio padrão

5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA POLPA DO FRUTO E FOLHA

Para as características químicas, conforme Tabela 4, o teor de água para a polpa foi $87,39 \pm 0,16\%$ e para a folha $77,31 \pm 0,28\%$, com teores superiores aos observados por Lima (2012) ao verificar os teores das partes comestíveis, obtendo para a polpa $83,25 \pm 0,25\%$. A diferença da umidade observada pode ser devida a influência de algum fator ambiental ou por período de frutificação.

Nesta Tabela estão expressos os valores de pH da polpa $4,67 \pm 0,03$ e da folha $4,57 \pm 0,03$, valor da polpa da castanhola próximo ao encontrado por Lima (2012), que obteve pH ($4,85 \pm 0,05$), conferindo um caráter mais ácido para esta estrutura do fruto.

Os resultados de acidez titulável da polpa da castanhola foi de $9,3 \pm 1,81\%$, que comparado ao valor encontrado por De Paula (2008) mostra-se semelhante ($7,94 \pm 4,41\%$). O valor da acidez titulável encontrado para a folha da castanhola foi de $10,29 \pm 0,79\%$.

Tabela 4. Dados da caracterização química da polpa do fruto e folha da castanhola (*Terminalia catappa* Linn)

Parâmetros Químicos	Polpa	Folha
Teor de água (%)	87,39 ± 0,16	77,31 ± 0,28
Resíduo mineral (%)	-	15,19 ± 1,5
pH	4,67 ± 0,03	4,57 ± 0,03
Acidez Titulável (%)	9,3 ± 1,81	10,29 ± 0,79
°Brix	7,75	-

O teor de sólidos solúveis encontrado por Marques *et al.* (2012) para o fruto da castanhola foi 8 °Brix, próximo ao encontrado nesta pesquisa 7,75°. Os sólidos solúveis são compostos por açúcares, cujo teor varia com a espécie, a forma de cultivo, o estágio de maturação e o clima, com valores médios entre 8 e 14% (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O valor do °Brix é utilizado como referência na fabricação de doces, sucos, polpas e bebidas em geral (COSTA *et al.*, 2004). As matérias-primas serão tanto melhores para a industrialização quanto maiores forem os seus teores de SST (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A Tabela 5 apresenta os teores dos constituintes minerais encontrados na folha da castanhola. Os teores deparados nas análises de teor de minerais da folha foram: K 41,24%, Ca 32,84%, Fe 15,02%, Cl 7,81% e P 1,08%. Os minerais encontrados na folha são consideravelmente acentuados para a alimentação e segundo Peterson *et al.* (1978), o consumo pode ser feito na forma de chá das folhas da castanhola.

Tabela 5. Teor de Minerais encontrados na castanha da Folha *T. Catappa*

Minerais	K	Ca	Fe	Cl	P
Teor (%)	41,24	32,84	15,02	7,81	1,08

Para Krause e Mahan (1991) os minerais desempenham diversos papéis essenciais no organismo, tanto na sua forma iônica em soluções nos fluidos corporais, quanto como constituintes de compostos essenciais. Eles também atuam como cofatores enzimáticos, sendo, portanto, requeridos em quantidades que dependem da fase de crescimento, das condições fisiológicas (gravidez, lactação) do estado nutricional e da saúde. Além disso, regula o equilíbrio ácido-base, a pressão osmótica, as atividades musculares e nervosas facilitam a transferência de compostos essenciais através das membranas e, em alguns casos, fazem parte dos elementos constituintes dos tecidos do organismo (CHIES *et al.* 1994 apud TEIXEIRA, 2010).

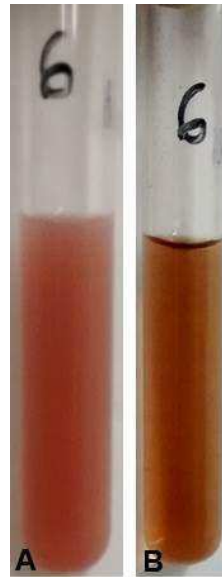
5.3 IDENTIFICADOR NATURAL DE ÁCIDO E BASE

Identificador ácido-base é uma substância, que é adicionado em pequenas quantidades a uma solução, que muda de cor quando colocada em contato com um ácido ou uma base. Estes corantes são dotados de propriedades halocrômicas, que é a capacidade de mudar de coloração em função do pH do meio.

Com o intuito de melhor representar a cor observada durante o uso do identificador natural de ácido e base, extraído da polpa do fruto da castanhola, foi selecionado o sistema de cores RGB.

RGB é a abreviatura do sistema de cores utilizado para reprodução de diversas outras cores por meio das cores básicas iniciais: Vermelho (Red), Verde (Green) e Azul (Blue). Dessa forma, uma cor no modelo de cores RGB pode ser descrita pela indicação da quantidade de vermelho, verde e azul que contém. Cada uma pode variar entre o mínimo (completamente escuro) e máximo (completamente intenso). Quando todas as cores estão no mínimo, o resultado é preto. Se todas estão no máximo, o resultado é branco. A escala de RGB varia de 0 (mais escuro) a 255 (mais claro).






Figura 7. A. Solução alcoólica indicadora. B. Solução aquosa indicadora.



Fonte: Dados da Pesquisa.

A Tabela 6 apresenta a mudança de coloração sofrida pelas soluções com diferentes pHs após uso do identificador natural da polpa do fruto da castanhola, extrato alcoólico.

Tabela 6. Extrato alcoólico da polpa do fruto da castanhola: Mudança de coloração das soluções com diferentes pHs

pH	COLORAÇÃO INICIAL	COLORAÇÃO FINAL		
		Nome		Número (RGB)
1,0	Incolor	Creme de marisco		255, 228, 196
4,0	Incolor	Amarelo claro		255, 255, 224
7,0	Incolor	Caqui		240, 230, 140
9,0	Incolor	Marfim		255, 255, 240
14	Incolor	Aspargo		123, 160, 91

O extrato alcoólico preparado a partir da polpa da castanhola apresentou a cor Terracota (Figura 7A). E observou-se que quando acrescido o identificador (extrato alcoólico) às soluções, estas sofreram variação de cores bem distintas entre soluções ácidas, neutras e básicas. A coloração da solução de H_2SO_4 0,1 M de pH 1,0, passou de incolor para Creme de marisco. O tampão de pH 4,0, passou de incolor para Amarelo claro. O tampão de pH 7,0, passou de incolor para Caqui. O tampão de pH 9,0 passou de incolor para Marfim. E a coloração da solução de NaOH 0,1 M de pH 14, passou de incolor para Aspargo. Demonstrando dessa forma uma mudança de coloração nítida entre os diferentes pHs estudados.

A Figura 8 apresenta as soluções com diferentes pHs logo em seguida à adição do extrato alcoólica da polpa da fruto da castanhola.


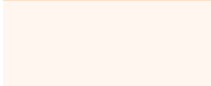
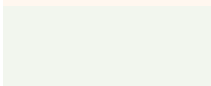
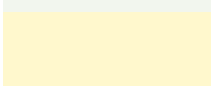

Figura 8. Soluções contendo extrato alcoólico de polpa do fruto da castanhola funcionando como identificador de pH



Fonte: Dados da Pesquisa.

A Tabela 7 apresenta a mudança de coloração sofrida pelas soluções com diferentes pHs após uso do identificador natural da polpa do fruto da castanhola, extrato aquoso.

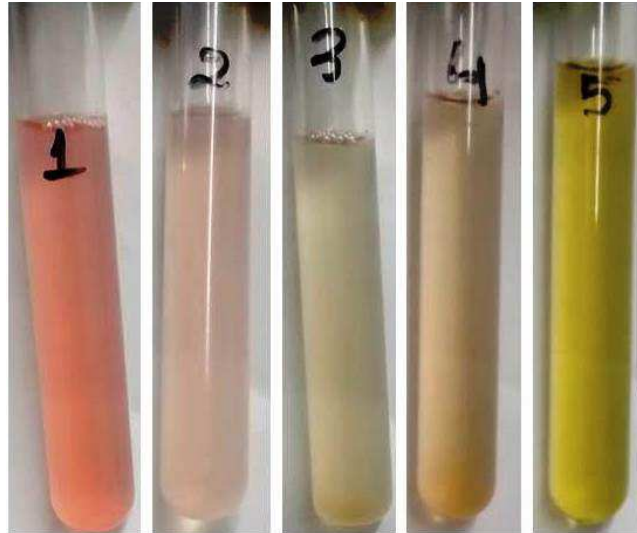
Tabela 7. Extrato aquoso da polpa do fruto da castanhola: Mudança de coloração das soluções com diferentes pHs

pH	COLORAÇÃO INICIAL	COLORAÇÃO FINAL	
		Nome	Número (RGB)
1,0	Incolor	Damasco	 251, 206, 177
4,0	Incolor	Branco floral	 255, 250, 240
7,0	Incolor	Branco fumaça	 245, 245, 245
9,0	Incolor	Seda	 255, 250, 205
14	Incolor	Açafrão	 244, 196, 48

O extrato aquoso preparado a partir da polpa da castanhola apresentou a cor Ferrugem (Figura 7 B). E observou-se que quando acrescido o identificador (extrato aquoso) às soluções, estas sofreram variação de cores bem distintas entre soluções ácidas, neutras e básicas. A coloração da solução de H_2SO_4 0,1 M de pH 1,0, passou de incolor para Damasco. O tampão de pH 4,0, passou de incolor para Branco floral. O tampão de pH 7,0, passou de incolor para Branco fumaça. E a coloração da solução de NaOH 0,1 M de pH 14, passou de incolor para Açafrão. Demonstrando dessa forma uma mudança de coloração nítida entre os diferentes pHs estudados.

A Figura 9 apresenta as soluções com diferentes pHs logo em seguida à adição do extrato aquoso da polpa da fruto da castanhola.

Figura 9. Soluções contendo extrato aquoso de polpa do fruto da castanhola funcionando como identificador de pH



Fonte: Dados da pesquisa.

Em diferentes pHs, os extratos assumem diferentes colorações que podem ser identificadas por observação visual, definindo-se escalas de pH em função da cor da solução resultante, indicando assim que os extratos brutos (alcoólico e aquoso) da polpa do fruto da castanhola podem ser usados como soluções identificador de pH.

As ligeiras diferenças de cores entre os extratos da polpa do fruto, para um mesmo valor de pH, podem ser atribuídas ao fenômeno de associação ao extrato alcoólico e aquoso entre os corantes, que é influenciado pela quantidade e pelos tipos de antocianinas presentes nos extratos.

A utilização destes extratos naturais identificadores de pH pode ser explorada didaticamente, desde a etapa de obtenção até a caracterização visual das diferentes formas coloridas que aparecem em função das mudanças de pH do meio.

5.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA FOLHA DA CASTANHOLA

Os resultados com o teste de toxicidade frente à *A. salina* do extrato etanólico das folhas de *Terminalia catappa* Linn estão descritos na Tabela 8, a mesma apresenta o número de *A. salina* mortas após 24 h de exposição ao extrato nas concentrações de 1200, 1000, 500, 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Tabela 8. Contagem de *Artemia salina* mortas após 24 h de exposição ao extrato etanólico da folhas da castanhola *Terminalia catappa* Linn.

Concentração do extrato ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Nº de <i>A. salina</i> exposta	Nº de <i>A. salina</i> mortas
100	30	3
500	30	3
1000	30	7
1200	30	11

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 foi resultante unicamente da ação do extrato etanólico de *Terminalia catappa* Linn.

Feita a análise de próbitos com software *Statistic*, com os dados presentes na Tabela 9, encontrou-se o valor de CL_{50} para o extrato estudado e seu respectivo intervalo de confiança 95%. O valor de CL_{50} com os limites de confiança para o extrato etanólico da folha da castanhola é apresentado na Tabela 8.

Tabela 9. Valores de CL_{50} com os limites de confiança para o extrato etanólico da folha da castanhola (*Terminalia catappa* Linn)

CL_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Intervalo de confiança 95%	
	Inferior	Superior
452,573	260,5841	644,5630

Para a folha da castanhola encontrou-se um valor de CL_{50} igual a $452,573 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. O extrato analisado apresentou valor de $CL_{50} < 1000 \text{ ppm}$, indicando assim ser tóxico de acordo com a metodologia de referência utilizada para o teste (Meyer *et al.*, 1982).

De acordo com Bussmann *et al.* (2011), tanto para extratos etanólicos, quanto aquosos, com valores de CL_{50} menores que $249 \mu\text{g}/\text{mL}$ apresentam alta toxicidade, CL_{50} entre 250 e $499 \mu\text{g}/\text{mL}$ apresentam toxicidade moderada, CL_{50} entre 500 e $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$ apresentam leve toxicidade, e CL_{50} acima de $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$ são considerados atóxicos.

Deste modo a avaliação de toxicidade testada frente a *A. salina* mostrou toxicidade moderada para o extrato etanólico da folha da *Terminalia catappa* Linn, no entanto bioensaios mais específicos devem ser encorajados, a fim de confirmar estas conclusões.

Claudiano *et al.* (2012) pesquisou a concentração letal CL_{50} do extrato aquoso da folha de *T. catappa*, usando peixes da espécie guarus como bioindicados da toxicidade encontraram valor CL_{50} de $208,52 \text{ ml/L}$, segundo Bussmann *et al.* (2011) mostrou-se baixa toxicidade o extrato aquoso da folha.

Silva *et al.* (2003) realizaram bioensaios utilizando *A. salina* para o extrato etanólico da folha do Araribá (*Centrolobium tomentosum*) e observaram que este apresentou baixa toxicidade, com CL_{50} de $537 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$.

No estudo da toxicidade das folhas de mangueira (*Mangifera indica* L.) por Silva *et al.* (2002), avaliou a toxicidade dos extratos frente *A. salina*, e foi calculado o valor da concentração letal média CL_{50} de $178 \mu\text{g}/\text{mL}$.

Castro *et al.* (2010) considerou a toxicidade do extrato aquoso da folha do noni (*Morinda citrifolia* Linn) e encontrou um valor de CL_{50} igual a $585,6 \mu\text{g}/\text{mL}$, sendo o valor inferior à 1000 ppm .

6. CONCLUSÕES

A polpa do fruto da castanhola apresentou teor de água de 87,39 %, pH de 4,67, acidez titulável de 9,3% e a folha da castanhola apresentou teor de água de 77,31 %, pH de 4,57 e acidez titulável de 10,29%. O teor de sólidos solúveis para o fruto da castanhola 7,75°Brix.

A folha da castanhola apresentou altos valores de minerais, destacando-se o K (41,24%), Ca (32,84%) e o Fe (15,02%), sendo estes teores consideravelmente acentuados para a alimentação.

Os extratos brutos (alcoólico e aquoso) da polpa do fruto da castanhola podem ser usados como soluções identificador de pH. Em diferentes pHs, os extratos assumem diferentes colorações que podem ser identificadas por observação visual, definindo-se escalas de pH em função da cor da solução resultante. A utilização destes extratos naturais identificadores de pH pode ser explorada didaticamente, desde a etapa de obtenção até a caracterização visual das diferentes formas coloridas que aparecem em função das mudanças de pH do meio.

Para a folha da castanhola encontrou-se um valor de CL_{50} igual a 452,573 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Deste modo a avaliação de toxicidade testada frente a *A. salina* mostrou toxicidade moderada, no entanto bioensaios mais específicos devem ser encorajados, a fim de confirmar estas conclusões.

7. REFERÊNCIAS

ALVES. J. D.; OLIVEIRA. F. S.; **INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DE *Sida santaremnensis* ATRAVÉS DO BIOENSAIO COM ARTEMIA SALINA LEACH**; PIBIC/CNPq/UFCG-2011.

ASEM A. Artêmia Salina no RN; Disponível em: <<http://www.artemiasalinadorn.com.br/sobre-artemia>>. **2008**. Historical record on brine shrimp *Artemia* more than one thousand years ago from Urmia Lake, Iran, *Journal of Biological Research*, 9: 113-114.

ASSIS, S. (INSTITUTO FEDERAL DE ALAGOAS) ; BERNARDES, E. (INSTITUTO FEDERAL DE ALAGOAS) **Indicador Ácido-Base A Partir Da Flor Papoula (*Hibiscus* Sp.) Utilizando Materiais Encontrados No Dia A Dia.**; FORTALEZA / CE . SIMPEQUE; 06 a 08 de Agosto de 2014.

BUSSMANN, R. W. et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 137, p. 121-140, 2011.

CASTRO, L. M. R., DIAS, L. P. et al. **Atividade citotóxica do extrato aquoso de *Morinda citrifolia* (Rubiaceae)**. In: V Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica (CONNEPI 2010), 2010, Maceió-IFAL.

CAVALCANTE, M. A. et al. Características físicas químicas da Castanhola, *Terminalia catappa* Linn, **Ciência Agrônômica**, v. 17, n. 1, p. 111-116. 1986.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. C. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005, 785p.

COLLINS, D.J.; PILOTTI, C.A.; WALLIS, F.A.; 1992. Triterpene acids from some Papua New Guinea *Terminalia* species. **Phytochemistry** 32 (3), 881-884.

COMO OBTER ALGUNS INDICADORES NATURAIS DE pH Disponível em: <<http://nerdaquimica.webs.com/apps/blog/show/10201487-como-obter-alguns-indicadores-naturais-de-ph>> acessado Setembro, 2015.

COSTA, W. S. da, FILHO, J. S., MATA, M. E. R. M. C., QUEIROZ, A. J. de M. Influência da concentração de sólidos solúveis totais no sinal fotoacústico de polpa de manga. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.6, n.2, p.141-147, 2004.

CLAUDIANO; G. S , PILARSKI; F. , CRUZ C. ; SALVADOR. R, BELO. A. M. A; MORAES. F. R; **Concentração Letal Cl50 Do Extrato Aquoso De Folhas De *Terminalia Catappa* Em Guarú, *Phalloceros Caudimaculatus***; **Archives of Veterinary Science**; www.ser.ufpr.br/veterinary; v.17, n.3, p.15-19, 2012.

CHEN, P. S.; LI, J. H.; LIU, T. C. Folk medicine of *Terminalia catappa* and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Letters*, v.152, p. 115-122, 2000.

DE PAULA, A. A. Caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da *Terminalia catappa* Linn/ Andréia Alves de Paula. –Itapetinga: Universidade Estadual

do Sudoeste da Bahia, (**Dissertação Mestrado**) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 91p. 2008.

DE PAULA; **Extração, Quantificação De Fenóis Totais E Identificação De Compostos Fenólicos Da Polpa Dos Frutos Da *Terminalia catappa* Linn, CAPÍTULO 2, UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB; PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 2008**

DIAS, M. V.; et. al. Corantes Naturais: Extração e emprego como indicadores de pH. Química Nova na Escola. Niterói, n. 17, p.27-31, 2003. Disponível em: <<http://www.qnesc.sbq.org.br/online/qnesc17/a07.pdf>>. Acesso em: 11 de maio de 2012.

ENIEL, D. C.; MARTINS, F. O.; CARVALHO, J.E.U. Biometria de sementes e germinação de jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, *Leguminosae-Caesalpinioideae*). **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo, v.4, n.2, p.1-6, 2001.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3 ed., New York, NY: Marcel Dekker, 1996, 1069p
FERREIRA, A. B. de H.; FERREIRA, M. B.; DOS ANJOS, M. **Minidicionário Aurélio da língua portuguesa**. 3 ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1993.

FORMIGARI B. & FORMOSURA. C; FOLHAS MILAGROSAS; FOLHAS MÁGICAS 22/05/2008 15:47, Disponível em < <http://canarilformosura.webnode.com.br/news/folhas-milagrosas/>>20 de Novembro 2015

FRANCO M.; CHAPÉU-DE-SOL - (***Terminalia catappa***). Disponível em: <<http://plantas-ornamentais.blogspot.com.br/2011/12/chapeu-de-sol-terminalia-catappa.html>> Acesso em: Novembro de 2015. Postado por às 12:48 Local: Recife - PE, Brasil.

HIROTA, B. C. K.; PAULA, C. S.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. **Avaliação de toxicidade in vitro: Aplicabilidade do ensaio de letalidade frente Á *Artemia salina***. Visão Acadêmica, Curitiba, v.13, n.2, Abr. - Jun./2012 - ISSN 1518-5192

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.

IVANI, S. A.; SILVA, B. M. S.; OLIVEIRA, C.; MÔRO, F. V. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de castanheira (*Terminalia catappa* L. – Combretaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, vol.30, n. 2, 2008.

KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Livraria Roca, 981p ,1991.

LAJOLO, F. M. As deficiências da composição de alimentos no Brasil. **Simpósio das Instituições de Alimento e Nutrição**. 2-5 p, 1995.

LIMA, R. M. T. de, **Fruto da castanhola (*Terminalia catappa* Linn): compostos bioativos, atividade antioxidante e aplicação tecnológica**, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição - PPGAN Teresina, 2012.

LIN, C. C.; Chen, Y. L.; Lin, J. M; Ujiie, T. Evaluation on antioxidant and hepatoprotective activity of *Terminalia catappa*. *American Journal of Chinese Medicine*, v. 25, n. 2, p. 153-161, 1997.

LIN, T.-C. Study on the tannins and related compounds in the fruit of *Terminalia catappa* L. *Journal of Chinese Medicine*, v. 14, p.165-174, 1992.

M.L.P. MELO; G.A. MAIA; A.P.V. SILVA; G.S.F. OLIVEIRA; R.W. FIGUEIREDO. Caracterização físico-química da amêndoa da Castanha de caju (*Anacardium Occidentale* L.) Crua E Tostada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol. 18 n. 2 Campinas Maio/Junho 1998.

MAHAN LK, ESCOTT-STUMP S. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 10. ed.São Paulo: Roca, 2002. 1179p.

MALIEN-AUBERT, C.; DANGLES, O. AMIOT, M. J. Color stability of commercial anthocyanin based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra and intermolecular copigmentation, *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p. 170-176, 2001.

MARACAJÁ, P. B.; LEITE, D. T; SILVA, H. S.; CAVALCANTI, M. T.; SILVEIRA, D. C.; NETO, F. A. A.; **Toxicidade de flores de Terminalia catappa Linn A abelhas Africanizadas em condições controladas**. ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido, v.06, n 03 julho/setembro 2010 p. 01 – 06; www.cstr.ufcg.edu.br/acsa.

MARQUES M. R., PAZ D. D., BATISTA L. P. R., BARBOSA C. de O., ARAÚJO M. A. M., MOREIRA-ARAÚJO R. S. dos R. Composição física, físico-química, química, análise do teor de fenólicos totais e poder antioxidante in vitro de frutos de Castanhola (*Terminalia catappa* Linn); *Ciências Tecnologia Alimentos*, Campinas, 32(1): 209-213, jan.-mar. 2012.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., McI. AUGHILIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plant Research*, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

MICHAELIS; moderno dicionário da língua portuguesa. Rio de Janeiro: Reader's Digest; São Paulo: Melhoramentos, v.1, 2000.

MORAES, R. R. de. **Refratometria**. Governo do estado do Piauí. FAPEPI, 2006. Disponível em <http://www.fapepi.pi.gov.br>. Acessado em julho de 2008.

PETERSON, M. S.; Johnson, A. H. **Encyclopedia of food science**, vol.2.p.100-125, 1978.

ROSSI A. V; SALOMÃO A. A; COELHO A. G; TERCI. D. B. L; CAMPOS D. D. P; SHIMAMOTO. G, G; FAVARO. M, M, A ; SAMPAIO P, G; - PINHEIRO. T, A, L; SILVA. W, L, G; Publicado em 14 de outubro de 2011 Disponível em<<http://www.canalciencia.ibict.br/pesquisa/0244-Antocianinas-quimica-corantes-naturais.html>> 02-10-2015.

RATNASOORIYA, W. D.; DHARMASIRI, M. G.; RAJAPAKSE, R. A. S.; DE SILVA, M. S.; JAYAWARDENA, S. P. M.; FERNANDO, P. U. D.; DE SILVA, W. N.; NAWELA, A. J. M. D. N. B.; WARUSAWITHANA, R. P. Y. T.; JAYAKODY, J. R. C.; DIGANA, P. M. C.

57 B. **Tender leaf extract of Terminalia catappa antinociceptive activity in rats.** *Pharmaceutical Biology*, v. 40, n. 1, p. 60-66, 2002.

SANTOS, M. N.; TEIXEIRA M.; L.; F. **Semente de amendoeira (*Terminalia catappa* L.) (Combretaceae) como substrato para o cultivo de orquídeas epífitas**, Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rua Jardim Botânico, Laboratório de Fitossanidade 1008, 22460-000, v. 32, n. 2, p. 339-343, 2010.

SANTOS. E, F; RIOS. D, A, M; **ENSAIO DE TOXICIDADE COM *Artemia salina* DO HIDROLATO DE LARANJA** Ciências Biológicas / Ecologia / Ecologia Fortaleza, CE Ceará- SEDUC.

SGABIERI, W.C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento.** /Almed, 1987.

SILVA, M.N.F.; VALENTE, M.C. **Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Combretaceae.** Rodriguésia, Rio de Janeiro, v. 56, n. 86, p. 131-140. 2005.

SILVA. C, L; Folhas Mágicas Disponível em <<http://acquaticos.blogspot.com.br/2010/08/folhas-magicas.html>> 15 de Julho 2012

SOUTO, F. J. B. **Influencias de parâmetros ambientais sobre *Artemia* sp** (Branchiopoda: Artemiidae) em uma salina artesanal do estado do Rio Grande do Norte. Curso de Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia, Universidade Federal da Paraíba, 1991, 19 p. Notas de aula.

SILVA, I.G.; GUIMARÃES, V.P.; LIMA C.G. et al. **Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* sobre *Aedes aegypti*** (Diptera, Culicidae) em criadouros artificiais. *Revista de Patologia Tropical*, v.32, n.1, p.73-86, 2003.

SOUTO, P. C.; SALES, F. C. V.; SOUTO, J. S.; SANTOS, R. V.; SOUSA, A. A. **Biometria de frutos e número de sementes de *Calotropis procera*** (Ait.) R. Br. no semiárido da Paraíba. *Revista Verde*, v.3, n.1, p.108-113, 2008.

TANG, X.; GAO, J.; WANG, Y.; FAN, Y. M.; XU, L. Z.; ZHAO, X.; XU, Q.; QUIAN, Z. M. Effective protection of *Terminalia catappa* L. leaves from damage induced by carbon tetrachloride in liver mitochondria. *Journal. of Nutrition. Biochemistry.* v. 17, p.177–182, 2006.

TEIXEIRA, H. L. Dissertação de mestrado: **Composição Química e Perfil de Ácidos Graxos da Castanha do Fruto da Castanhola (*Terminalia catappa* Linn).** Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração em Engenharia de Alimentos. Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 60 fl, 2010.

TERCI, D.; B.; L.; ROSSI, A.;V.; **Indicadores naturais de ph: Usar papel ou solução?** Instituto de ; Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, 13083-970 Campinas – SP *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 4, 684-688, 2002

Território do Curimataú: Resumo Executivo Plano Territorial de Desenvolvimento Rural Sustentável – PTDRS Território do Curimataú-PB. Paraíba, 2010. Disponível em: <[www.http://sit.mda.gov.br/download/ptdrs/ptdrs_qua_territorio160.pdf](http://sit.mda.gov.br/download/ptdrs/ptdrs_qua_territorio160.pdf)>. Acesso: 25 ago. 2015.

THOMSON, L. A. J.; EVANS, B. *Terminalia catappa* (tropical almond), ver. 2.2. In: Elevitch, C.R. (ed.). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR)*, Hōlualoa, Hawai,,i, 2006. Disponível em <http://www.traditionaltree.org>. Acessado em junho de 2008.

UCHIDA V. H.; MIGUEL T. B. V., A. L. M. MAT, M. M. L. DUARTE, **Análise por planejamento experimental dos fatores que influenciam a extração do corante da castanhola**, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia de Alimentos, outubro 2014.

VARESCHI, V. 1.979. **Plantas entre el mar y la tierra. Caracas- Venezuela**. Talleres Gráficos Armitano citado por GONZÁLES-MENDOZA et al., 2006.