Pesquisa Multidisciplinar em Saúde
Edição VIII

CAPÍTULO 14

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO DE *Curcuma longa* Linn. E *Bixa orellana* L., FRENTE AO TESTE COM *Artemia salina* Leach.

ROBERTA MARIA ARRAIS BENÍCIO[1]
JOSÉ WALBER GONÇALVES CASTRO[2]
GUILHERME RYAHN CAMPOS VENUTO[3]
JOSÉ DIÓGENES SILV OLIVEIRA[3]
EMANUEL WENDEL DE QUEIROZ SILVA[3]
LARIZA LEISLA LEANDRO NASCIMENTO[4]
ANNALYVIA PASTOR SOUSA[5]
SAMADHI ARRAIS BENÍCIO[5]
VANESSA LIMA BEZERRA[6]
MARIA GIRLENE DOS SANTOS QUEIROZ[7]
MARIA AMANDA NOBRE LISBOA[7]
GUILHERME MENDES DOS SANTOS[8]
ARTHUR DA SILVA NASCIMENTO[9]
MATEUS PEREIRA SANTANA[10]
GEANE GABRIELE DE OLIVEIRA SOUZA[11]

[1]Docente Mestre em Diversidade Biológica e Recursos Naturais (PPGDR) da Universidade Regional do Cariri (URCA)
[2]Docente Doutorando em Química Biológica (PPQB) da Universidade Regional do Cariri (URCA)
[3]Discente em Enfermagem do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO)
[4]Mestranda em Química Biológica (PPQB) da Universidade Regional do Cariri (URCA)
[5]Discente em Biomedicina do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO)
[6]Mestranda em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM) na Universidade Federal do Cariri (UFCA)
[7]Mestranda em Diversidade Biológica e Recursos Naturais (PPGDR) na Universidade Regional do Cariri (URCA)
[8]Ensino Médio - EEMTI Amalia Xavier
[9]Mestrando em Diversidade Biológica e Recursos Naturais (PPGDR) da Universidade Regional do Cariri (URCA)
[10]Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade Regional do Cariri (URCA)
[11]Mestranda em Química Biológica (PPQB) da Universidade Regional do Cariri (Urca)

Palavras-chave:Toxicidade; Curcuma longa; Bixa orellana.

doi 10.59290/978-65-6029-102-7.14

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas e substâncias naturais com finalidades terapêuticas, culturais e culinária remonta a tempos imemoriais, representando uma parte significativa do patrimônio cultural de muitas comunidades ao redor do mundo (SILVA *et al*., 2010). Entre as substâncias de origem vegetal que desempenham papéis multifacetados nas práticas tradicionais, a *Curcuma longa* Linn. (açafrão) e *Bixa orellana* L. (urucum), emergem como protagonistas, encontrando aplicações na pele dos povos originários e na culinária de diversas culturas.

A *C. longa*, popularmente conhecida como açafrão-da-terra, tem sido reverenciada por suas propriedades medicinais, conferindo-lhe o status de um dos ingredientes mais valioso da medicina tradicional em muitas partes do mundo. Além disso, o açafrão é amplamente utilizado na culinária devido ao seu sabor à cor vibrante que confere aos pratos (SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2014). Por sua vez a *B. orellana*, ou urucum, é uma fonte natural de corante bastante exploradora na culinária, sobretudo na América Latina, conferindo uma coloração característica dos pratos tradicionais (SILVA *et al*., 2020) Além disso, as sementes de urucum também têm sido utilizadas em práticas culturais, incluindo pinturas corporais em comunidades indígenas.

No entanto, apesar da longa história de uso e tradições associadas a essas diferenças, a avaliação abrangente de sua toxicidade permanece uma questão relativamente pouco explorada. Diversas aplicações tradicionais envolvem o contato direto com a pele ou a ingestão dessas substâncias, o que destaca a necessidade de determinar os níveis de segurança de exposição para garantir a segurança e a saúde daqueles que fazem uso delas (LÉDA, 2019).

Nesse contexto, o presente capítulo se propõe a realizar uma avaliação minuciosa da toxicidade de diferentes concentrações das tinturas da *C. longa* e da *B. orellana*, empregando o teste com *Artemia salina* Leach como modelo de estudo. A *A. salina* é um organismo marinho amplamente utilizado em estudos de toxicidade devido à sua sensibilidade a várias substâncias químicas (MARTINS, 2023).

Os resultados deste estudo têm o potencial de fornecer informações cruciais para orientar a utilização responsável dessas variações em aplicações tradicionais e contemporâneas, considerando tanto os aspectos culturais como as questões de segurança alimentar e de produtos de cuidados com a pele. A proposta de pesquisa visa aprofundar o conhecimento sobre as tinturas da *C. longa* Linn. (açafrão) e *B. orellana* L. (urucum), substâncias que são amplamente utilizadas na pele por povos originários e na culinária de várias culturas em todo o mundo. Essas tinturas são valorizadas por suas propriedades terapêuticas, bem como por suas aplicações estéticas e gastronômicas. No entanto, a falta de dados científicos abrangentes sobre a toxicidade química em diferentes concentrações representa uma lacuna significativa no conhecimento.

Esta pesquisa é justificada por várias razões: Uso tradicional e cultural, tanto o açafrão como o urucum têm sido usados historicamente por populações indígenas em práticas tradicionais de cura, rituais e pinturas corporais. É fundamental entender os impactos da exposição contínua a essas tinturas, a fim de respeito e preservação das tradições culturais dos povos originários. Como também Segurança e Saúde Pública, à medida que essas diferenças ganham popularidade. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo, avaliar a toxicidade de diferentes concentrações de tintura de *Curcuma longa* Linn. (açafrão) e *Bixa orellana* L. (uru-

cum), em relação ao teste com *Artemia salina* Leach, a fim de determinar os níveis seguros de exposição a essas tinturas, contribuindo para a preservação das práticas culturais dos povos originários que utilizam essas variações em suas tradições, bem como para a segurança alimentar, garantindo o uso responsável e seguro dessas substâncias na culinária e em produtos de cuidado com a pele.

MÉTODO

Trata-se de uma pesquisa laboratorial, de natureza quantitativa (PEREIRA *et al*., 2018), onde foi testado a toxicidade de tinturas de açafrão e urucum, as quais foram obtidas de acordo com as diretrizes da Farmacopeia Brasileira (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2021). Utilizou-se o bioensaio com *A. salina*, de acordo com a técnica descrita por Meyer *et al*., (1982). Os cistos secos de *A. salina* foram obtidos em loja de aquarismo. Os cistos (3 g) foram incubados em um aquário de vidro com água salina artificial (36 g de sal marinho para 1 L de água destilada) à temperatura de 28 ˚C e com aeração constante, simulando o ambiente natural da *A. salina* (água salina rasa). Foi mantida iluminação constante (20 W), e o pH mantido entre 8,5 e 9, controlado com bicarbonato de sódio e verificado através de tira universal de pH. As larvas não receberam alimentação durante o período do estudo (MARTINS *et al*., 2021; MEYER *et al*., 1982). Após 24 horas (período de eclosão dos cistos), os náuplius de *A. salina* foram coletados com pipetas plásticas de 3 mL e 10 náuplius foram transferidos para cada tubo de ensaio (tinturas de açafrão e urucum nas diferentes concentrações, controle positivo e negativo). O teste foi realizado em triplicata. Foram testadas as seguintes concentrações das tinturas de açafrão e urucum 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL e 10 µg/mL. Utilizou-se solução salina como controle negativo e dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) em concentração de P.A. como controle positivo, cuja toxicidade está entre 20 e 40 ppm (SAM, 1993). O controle negativo foi utilizado para se ter certeza de que a mortalidade observada nos náuplios era resultante da toxicidade aos compostos e não devido à falta de alimentação. E o dicromato como controle positivo, devido ao fato do açafrão e do urucum serem ativos interessantes para serem adicionados em tinturas de pele e corantes de alimentos, tornando-se possível verificar a toxicidade das tinturas. Os náuplius vivos foram contados após 24 h. Foram considerados vivos todos aqueles que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observado próximo a uma fonte luminosa, durante 10 segundos. Cada tubo de ensaio foi avaliado por duas pessoas. Quando havia divergência nas contagens, o procedimento era repetido pelos operadores. Para avaliar CL50, os dados foram submetidos à análise após 24 h de exposição as substâncias testadas. As tinturas foram consideradas ativas quando os valores foram menores que 1000 µg/mL. Curvas de sobrevivência foram realizados para os extratos comparando com os controles negativo e positivo, através do software GraphPad® Prism (GraphPad Software, San Diego, California, EUA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios com o gênero *Artemia* sp. são usados como um organismo modelo de teste marinho para estudos de ecotoxicidade devido à sua facilidade de cultura, disponibilidade imediata, baixo custo devido à rapidez, confiança e baixo custo. Segundo Amarante (2011), a relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média (CL50) apresentada por extratos de

plantas sobre larvas de *A. salina*, tanto extratos orgânicos, quanto extratos aquosos com valores de CL50 acima de 1000 µg/mL, estes, são considerados atóxicos, baixa toxicidade quando a CL50 for superior a 500 µg/mL; moderada para CL50 entre 100 a 500 µg/mL e muito tóxico quando a CL50 foi inferior 100 µg/mL.

No presente estudo foi testada a toxicidade das tinturas de açafrão e urucum. Os valores de CL50 ± erro-padrão e os respectivos intervalos de confiança, das tinturas estão apresentados na **Tabela 14.1**.

Tabela 14.1 Porcentagem e média das *A. salinas* mortas nas concentrações

ARTEMIA SALINA- ETOH Açafrão *(Curcuma longa)*

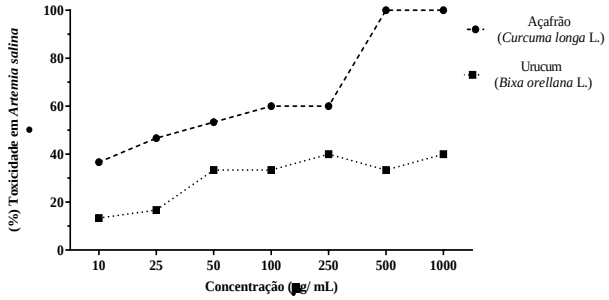
Concentrações	1	2	3	%			MÉDIA
10 ug/ mL	4	1	6	40,00	10,00	60,00	36,67
25 ug/ mL	6	5	3	60,00	50,00	40,00	50,00
50 ug/ mL	3	6	7	30,00	60,00	70,00	53,33
100 ug/ mL	6	5	7	60,00	50,00	70,00	60,00
250 ug/ mL	5	6	6	50,00	60,00	60,00	56,67
500 ug/ mL	10	10	10	100,00	100,00	100,00	100,00
1000 ug/ mL	10	10	10	100,00	100,00	100,00	100,00

ARTEMIA SALINA- ETOH Urucum *(Bixa orellana)*

Concentrações	1	2	3	%			MÉDIA
10 ug/ mL	1	1	2	10,00	10,00	20,00	13,33
25 ug/ mL	0	2	3	0,00	20,00	30,00	16,67
50 ug/ mL	3	3	4	30,00	30,00	40,00	33,33
100 ug/ mL	3	5	2	30,00	50,00	20,00	33,33
250 ug/ mL	4	4S	4	40,00	40,00	40,00	40,00
500 ug/ mL	2	4	4	20,00	40,00	40,00	33,33
1000 ug/ mL	6	3	3	60,00	30,00	30,00	40,00

O nível de intervalo de confiança foi de 1%. As concentrações de 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL e 10 µg/mL foram utilizadas para o cálculo da CL50, em que é estabelecida a Concentração Letal para 50% da *A. salina.* A **Figura 14.1** apresenta as curvas de sobrevivência para todas as concentrações testadas para se chegar ao resultado da CL50.

Figura 14.1 Gráfico da atividade tóxica do extrato aquoso de *Curcuma longa* L. (Açafrão) e *Bixa orellana* L. (Urucum) medida pelo ensaio contra o microcrustáceo *Artemia salina* (Leach)



O teste foi acompanhado de controle positivo preparado com dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), e controle negativo com água marinha. Os valores foram expressos com as médias= S.E.M. (n=4) [Regressão não linear das transformadas das curvas, (ANOVA de Umavia, seguido do *Test Bonferroni*). Foi usado o programa *GraphPad Prism 9.0.*

Como observado na **Figura 14.1**, representando o gráfico da Toxicidade em *Artemia salina* nas concentrações de 10 µg/mL, 25 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL, o extrato aquoso de *Bixa orellana* (urucum) apresenta uma baixa toxicidade, o que demonstra confiança no uso desse extrato. Diferente o extrato aquoso de *C. longa* (açafrão), que apresenta maior toxicidade nas concentrações 1000 µg/mL e 500 µg/mL. Estudo realizado por Silva Filho *et al.*, (2009) mostrou que os resultados obtidos nos ensaios de toxicidade para C. *longa* tiveram CL-50 de 319,82 mg/L, sendo classificado também como atóxico. O açafrão possui a curcumina, principal componente na ação de conferir cor aos alimentos (DUARTE *et al.*, 1989), possui também coratenóides a bixin a e norbixina, assim como o urucum, conferindo as mesmas propriedades de coloração (SILVA *et al.*, 2001).

No que diz respeito à nocividade do extrato de urucum, o JECFA (sigla em inglês para Comitê de Especialistas Conjunto FAO/OMS em Aditivos Alimentares) da FAO/OMS (sigla em inglês para Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura/Organização Mundial da Saúde) em 2002, distribuída um limite para a ingestão de extrato de urucum, predominantemente composto por bixina, de 0,065 mg por kg de peso corporal por dia.

CONCLUSÃO

Contudo, em relação ao padrão no elevado índice da mortalidade dos microcrustáceos quanto ao aumento das concentrações apresentaram diferenças entre os tratamentos. Este estudo analisou as diversas divergências na toxicidade entre os extratos vegetais testados, o extrato de açafrão é o que apresentou maior toxicidade quando comparado ao extrato de urucum. Consequentemente, torna-se necessário que outros estudos sobre a toxicidade de extratos sejam realizados afim de evitar efeitos tóxicos e danosos para a saúde de toda a população que faz uso recorrente desses extratos nas diversas formas, tanto medicinal, cultural e até mesmo na culinária tradicional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.R. *et al.* Química de produtos naturais: Plantas que testemunham histórias. Revista Virtual de Química, v. 9, n. 3, p. 1117-1153, 2017. doi: http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20170068.

BAPTISTÃO, M. (2020). Caracterização elementar e de compostos orgânicos em sementes de urucum: um estudo multi plataforma [Dissertação de Mestrado, Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas]. Repositório da Produção Científica e Intelectual da Unicamp. http://repositorio.unicamp.br/Acervo/Detalhe/1129211.

CAMPOS, D.D. & LEÃO, M.F. Utilização do urucum pelos indígenas Terena do Mato Grosso e do Mato Grosso do Sul: divulgação de saberes tradicionais e científicos. Exatas Online, v. 9, n. 1, p. 12-30, 2018.

CASTRO, M.R. A contribuição do uso de plantas medicinais na autonomia dos cuidados com a saúde. ASKLEPION: Informação em Saúde, v. 2, n. 1, p. 160-171, 2022. doi: https://doi.org/10.21728/asklepion.2022v2n1.p160-171.

CECILIO FILHO, A.B. *et al*. Cúrcuma: Planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. Ciência Rural, v. 30, n. 1, p. 171-177, 2000.

ISLAM, S. *et al.* Phytochemistry, biological activities and potential of annatto in natural colorant production for industrial applications – A review. Journal of Advanced Research, v. 7, n. 3, p. 499-514, 2016. doi: https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.11.002.

IZIDORO, M. *et al*. Propriedades funcionais e organolépticas de plantas condimentares: Revisão. Research, Society and Development, v. 10, n. 6, p. 1-13, 2021. http://dx.doi.org/10.33448/rsdv10i6.14958.

LAMEIRA, O.A. & PINTO, J.E.B.P. Em plantas medicinais: Do cultivo, manipulação e uso à recomendação popular. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 264 p., 2008.

LAVENS, P. & SORGELOOS, P. The history, present status and prospects of the availability of Artemia cysts for aquaculture. Aquaculture, v. 181, n. (3–4), p. 397-403, 2000. doi: https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00233-1.

LÉDA, P.H.O. (2019). Etnobotânica aplicada às plantas medicinais como subsídio para a introdução de espécies nativas do bioma Amazônia no Sistema Único de Saúde de Oriximiná – Pará, Brasil [Tese de Doutorado da Universidade Federal do Pará]. Belém - Pará, Brasil. https://sigaa.ufpa.br/sigaa/public/programa/defesas.jsf?lc=pt_BR&id=1903.

MARTINS, A.C.R, *et al*. Avaliação da toxicidade de tinturas de aroeira e de romã através do bioensaio com *Artemia salina*. Research, Society and Development, v. 10, n. 3, p. 1-9, 2021. doi: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13751.

MEYER, B.N. *et al.* Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Medica, v. 45, n. 5, p. 31–34, 1982.

REED, L.J. & MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. American Journal of Hygiene, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938. doi: https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.AJE.A118408.

RIBEIRO, B.G. (2013). O índio na cultura brasileira. Rio de Janeiro: Fundação Darcy Ribeiro, 210 p. https://fundar.org.br/publicacoes/biblioteca-basica-brasileira/o-indio-nacultura-brasileira/.

SAM, T.W. Toxicity testing using the brine shrimp: *Artemia salina*. In: Bioactive natural products. Colegata, S. M. e Molyneuse, R. J. EUA: Ed. CRC Press, 1993.

SENIGALIA, R.L.C. Toxicidade de extratos vegetais de plantas do cerrado de uso medicinal. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 8, p. 55308-55317, 2020. doi: https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-088.

SILVA FILHO, C.R.M.da *et al.* Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 19, n. 4, p. 919-923, 2009.

SILVA, E.C. *et al*. Extração e caracterização térmica e mineralógica do corante extraído das sementes de urucum. Brazilian Applied Science Review, v. 4, n. 6, p. 3730-3737, 2020. doi: https://doi.org/10.34115/basrv4n6-035.

SILVA, S.N.S. *et al.* Adoção das práticas de conservação on farm e de seleção de variedades pelos produtores de urucum no município de Vitória da Conquista – BA. Revista Brasileira de Agroecologia, v. 5, n. 1, p. 106-113, 2010.

SUETH-SANTIAGO, V. *et al.* Curcumina, o pó dourado do açafrão-da-terra: Introspecções sobre química e atividades biológicas. Química Nova, v. 38, n. 4, p. 538-552, 2015.