

## **ENSAIO DE TOXICIDADE COM *Artemia salina* DO HIDROLATO DE LARANJA**

Erika Ferreira dos Santos – nielyrios@yahoo.com.br

EEFM Profª. Telina Barbosa da Costa – Fortaleza, CE

Danielly Albuquerque Medeiros Rios

Profa. Orientadora – Secretaria de Educação do Ceará- SEDUC

### **INTRODUÇÃO**

Produtos naturais abundantes e facilmente acessíveis podem servir como matéria-prima para a preparação de novas moléculas com potencial aplicação na área de fármacos ou ainda como inseticidas. O resultado da destilação de cascas de laranja, denominado hidrolato de laranja, apresentou em testes atividade contra moluscos aquáticos. Assim, para avaliar a introdução desse produto natural no meio ambiente resolveu-se testar sua toxicidade. Os testes de toxicidade são elaborados com os objetivos de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES e FORBES, 1994). Muitos ensaios de toxicidade podem ser utilizados, como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais (MEYER *et al.*, 1982). *Artemia salina* é uma espécie de microcrustáceo da ordem Anostraca, utilizada neste trabalho como bioindicador de toxicidade. A *Artemia* é um crustáceo filtrador que se alimenta basicamente de bactérias, algas unicelulares, pequenos protozoários e detritos dissolvidos no meio. A filtração ocorre nos toracópodos, encarregados de conduzir as partículas alimentícias em direção ao sistema digestivo. A taxa de filtração diminui com o aumento da concentração de partículas, ficando estas acumuladas e interferindo o processo normal de seus batimentos. Outro efeito das altas concentrações é que podem passar diretamente pelo tubo digestivo sem sofrer digestão, tornando o indivíduo subnutrido (SOUTO, 1991).

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). A utilização do crustáceo *Artemia* é uma espécie de fácil manipulação em laboratório e baixo custo econômico (CALOW, 1993). Estudos comprovam a ação tóxica de várias substâncias naturais ao crustáceo *Artemia* (RIOS, 1995; NASCIMENTO *et al.*, 2008).

Buscando analisar a toxicidade do hidrolato de laranja para testar sua ação contra moluscos sem interferir no processo ambiental, o presente trabalho objetiva avaliar o efeito tóxico do produto natural de laranja, resultado do método de destilação, com relação ao crustáceo *Artemia salina*.

## MÉTODOS E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* foi realizada através da adaptação da metodologia de Meyer *et al.* (1982), preparando-se uma solução com sal marinho na concentração de  $30 \text{ g L}^{-1}$ . O pH foi ajustado entre 8,0 e 9,0, por meio de solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de *Artemia salina* e no preparo das demais diluições. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina por 48 horas, com aeração constante a  $25^\circ \text{C}$  (Figura 1).

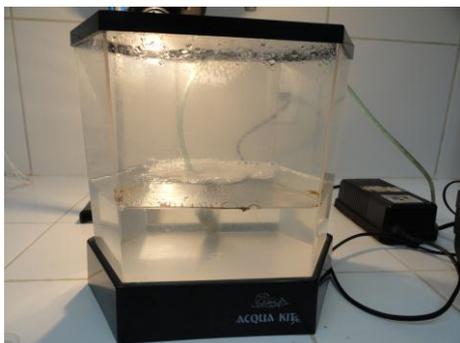


Figura 1. Aquário contendo cistos de *Artemia salina* submetidos durante um período de 48h, sobre iluminação e aeração constante para eclosão.

Cerca de 10 larvas de *Artemia salina* foram transferidas para tubos contendo a solução salina e amostras a serem testadas, nas seguintes concentrações do extrato aquoso: 10, 100, 500, 1000 e 1500ppm e extrato bruto do hidrolato. O ensaio foi realizado em triplicata de amostras, sendo a contagem dos animais mortos e vivos realizada após 24 horas (Figura 2).



Figura 2. Bioensaio com náuplios de *Artemia salina* em concentrações diferentes do hidrolato de laranja.

Aos dados de porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas, em relação ao aumento da concentração do hidrolato de laranja, ajustou-se uma equação linear simples, a qual foi utilizada para estimar a concentração de extrato responsável por matar 50% das artemias valor representativo da  $DL_{50}$ . Utilizou-se método gráfico de análise para obtenção da  $DL_{50}$  (dose letal do extrato para 50% da população). O teste foi acompanhado de um controle negativo, somente com água salina.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato foi testado nas concentrações de 10, 100, 500, 1000 e 1500 ppm e no extrato bruto. A análise gráfica do ensaio testado confere para o hidrolato de laranja  $DL_{50} = 756.000$  ppm. Os resultados dos ensaios nas concentrações testadas podem ser visualizados nas figuras 3 e 4.

O extrato testado não apresentou toxicidade frente a *Artemia salina*, uma vez que a  $DL_{50} > 1000$  ppm. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de  $DL_{50}$  abaixo de 1000 ppm em *Artemia salina* (Meyer et al., 1982). O motivo que corrobora a observação da baixa toxicidade do hidrolato de laranja sobre *A. salina* é o fato de esta planta ser comumente utilizada na complementação da alimentação.

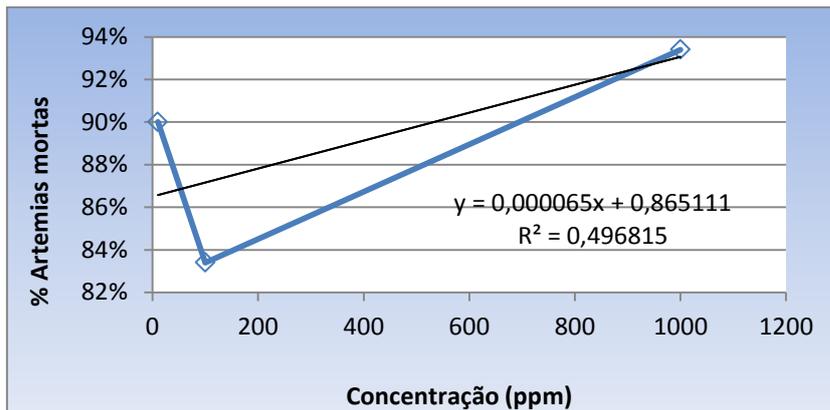


Figura 3. Porcentagem de náuplios de *Artemia salina* mortos em relação ao aumento de concentração do hidrolato de laranja evidenciados pela linha azul no gráfico (concentrações 10, 100 e 1000 ppm). A  $DL_{50}$  (dose letal do hidrolato para 50% da população) é observada em 755.921,3, ou aproximadamente 756.000 ppm do extrato.

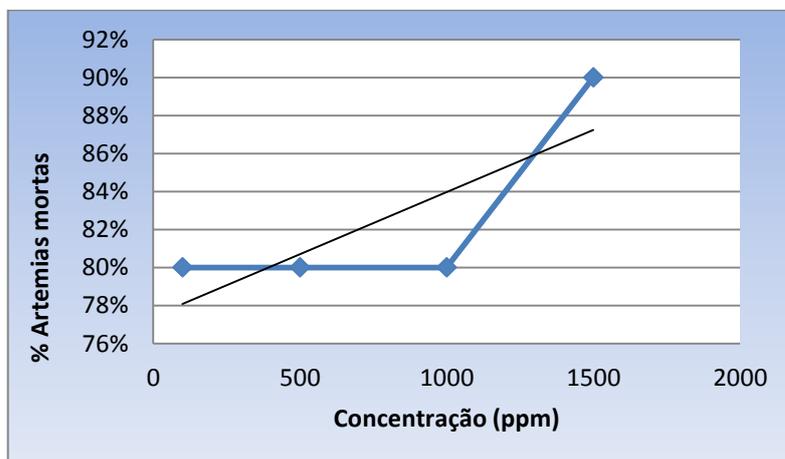


Figura 4. Porcentagem de náuplios de *Artemia salina* mortos em relação ao aumento de concentração do hidrolato de laranja evidenciados pela linha azul no gráfico (concentrações 100, 500, 1000 e 1500 ppm).

A ausência de toxicidade do hidrolato de laranja frente aos náuplios de *Artemia salina* fornecem dados para a utilização do referido produto natural na ação contra caramujos, espécies invasoras que podem causar danos no meio ambiente ou agirem como transmissores de patologias humanas e animal.

## CONCLUSÕES

O hidrolato de laranja não apresentou toxicidade ao microcrustáceo *Artemia salina*. Os resultados foram bons, apresentando dados positivos para o objetivo de pesquisa. Estudos apontam ação moliscicida do hidrolato em moluscos aquáticos, o fato de não apresentar toxicidade em *Artemia* confere que o hidrolato de laranja pode apresentar uma possível ação tóxica seletiva e, portanto, viabiliza a possível utilização do extrato no meio ambiente como interventor de caramujos invasores.

**Instituição de fomento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq

## Trabalho de Iniciação Científica Júnior

### Palavras-chave:

*Artemia salina*

*Hidrolato de laranja*

*Toxicidade*

### Referências Bibliográficas

CALOW, P. Marine and estuarine invertebrate toxicity tests. In: HOFFMAN, D. et al. **Handbook in cytotoxicology**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1993. v. 1. p. 1-5.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice**. Londres: Chapman and Hall, 1994. 247 p.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., Mcl.

AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

NASCIMENTO, J.E.; MELO, A.F.M.; LIMA E SILVA, T.C.; VERAS FILHO, J.; 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). **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n.2, p. 143-148, 2008.

RIOS, F. J. B. **Digestibilidade in vitro e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de *Artemia sp.*** 1995. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce.

SOUTO, F. J. B. Influências 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.