



CARACTERIZAÇÃO DE MARACUJÁ-ALHO (*Passiflora tenuifila* Killip) E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TÓXICO COM USO DE BIOENSAIO COM *Artemia salina*

N.J. Wurlitzer¹, D.K.R. Holanda², A.P. Dionísio³, A.R. Campos⁴, M.F. Iunes⁵, A.M. Costa⁶

1- Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza - CE. E-mail: nedio.jair@embrapa.br.

2- Universidade Federal do Ceará, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza - CE. E-mail: karine.holanda@yahoo.com.br

3- Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE.

4- Universidade de Fortaleza, Departamento de Farmácia, Fortaleza - CE.

5- Universidade Federal do Ceará, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza - CE.

6- Embrapa Cerrados, Brasília-DF.

RESUMO – O maracujá-alho é de ocorrência silvestre e tem sido referenciado com possível uso funcional, auxiliando na manutenção do normal funcionamento do sistema nervoso, não havendo conhecimento sobre possíveis efeitos de toxicidade relacionados ao seu consumo. Este trabalho teve por objetivo determinar a composição e avaliar a toxicidade do maracujá alho desidratado com uso do bioensaio *Artemia salina*. Foram efetuadas análises de umidade, lipídios, proteínas, cinzas, pH, acidez, polifenóis totais e atividade antioxidante total. O bioensaio de toxicidade foi efetuado com concentrações de 0,1 a 5 mg.mL⁻¹ de maracujá alho desidratado em solução salina 3%, sendo adicionados nauplios de *Artemia salina* e avaliada a mortalidade após 24h. Os valores de DL₅₀ (dose letal) determinados foram de 3,6 mg/mL e de 3,4 mg/mL, para material filtrado e dialisado, respectivamente. Conclui-se que o maracujá alho desidratado não apresenta toxicidade aguda, com uso de bioensaio com *A. salina*.

ABSTRACT – The garlic passion fruit has been referenced with possible functional use, helping in normal function of nervous system, with no knowledge of possible toxic effects related to their consumption. This study aimed to determine the dehydrated garlic passion fruit composition and evaluate the toxicity with use of *Artemia salina* bioassay. Moisture, lipids, protein, ash, pH, acidity, total polyphenols and total antioxidant activity analyzes were performed. The bioassay was performed with dehydrated garlic passion fruit concentrations from 0.1 to 5 mg.mL⁻¹, in a 3% saline solution, added with *Artemia salina* and mortality assessed after 24 hours. The LD₅₀ values were 3.6 mg.mL⁻¹ and 3.4 mg.mL⁻¹, for filtered and dialyzed material, respectively. We conclude that dehydrated garlic passion fruit has no acute toxicity, using *A. salina* bioassay.

PALAVRAS-CHAVE: *Passiflora tenuifila* Killip, potencial tóxico, *Artemia salina*, maracujá-alho.

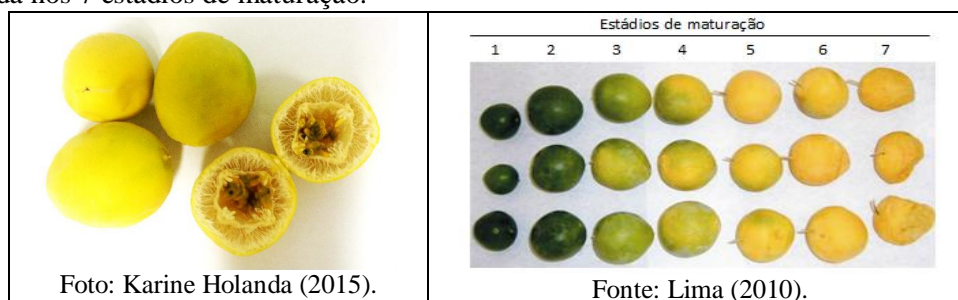
KEYWORDS: Garlic passion fruit, toxicity, *Artemia salina*.

1. INTRODUÇÃO

O maracujá possui mais de 150 espécies originárias do Brasil e mais de 60 destas produzem frutos que podem ser aproveitados direta ou indiretamente como alimentos (Braga et al., 2005). *Passiflora edulis* é a principal espécie comercial, sendo consumida principalmente pela qualidade de seus frutos. Já o maracujá alho (*Passiflora tenuifila* Killip), apresentado na Figura 1, é uma espécie de

maracujá não comercial e ainda silvestre no Brasil, e tem esse nome (maracujá alho) devido ao aroma característico de seus frutos.

Figura 1 - Maracujá alho (*Passiflora tenuifila* Killip) inteiro e em corte transversal, e coloração apresentada nos 7 estádios de maturação.



Diversos maracujás apresentam componentes como alcaloides, flavonoides, antocianinas e compostos fenólicos e atividade antioxidante, sendo que em revisão efetuada por Zeraik et al. (2010), muitos componentes são relacionados com atividades funcionais ou benéficas à saúde. As espécies de maracujá apresentam uma ação benéfica sobre o sistema nervoso, podendo atuar no controle da ansiedade, estresse e na prevenção de tremores da idade (Costa; Tupinambá, 2005; Dhawan et al., 2004). Segundo Madalena et al. (2013), o consumo de chá de frutos de *P. tenuifila* foram recomendadas para palpitação, nervosismo e insônia. Diante desses efeitos benéficos, faz-se necessário também o estudo dos possíveis efeitos adversos, como a toxicidade.

Vetore Neto (2015), estudando atividade antiúlcera de *P. setacea* e *P. tenuifila* e sua toxicidade, utilizando doses de 100, 200 e 400 mg/kg, verificou que a espécie de *P. tenuifila* não apresentou diferença significativa na redução na área relativa ulcerada em relação ao grupo controle (água), portanto não seguiu com o experimento de toxicidade. Diante disso, o presente trabalho é considerado inédito em relação ao quesito de toxicidade em *P. tenuifila*.

Entre os métodos de determinação de toxicidade aguda, Meyer et al. (1982) estabeleceram método alternativo com uso do microcústáceo *Artemia salina*, possibilitando testar soluções ou suspensões de extratos em solução salina, sendo considerado como atóxicos os extratos com concentração 1 mg/mL de solução salina, que apresentarem mortalidade inferior a 50%. A técnica de bioensaio que utiliza a *A. salina* tem sido mais utilizada visando substituir as técnicas com ratos e camundongos, pois é um método mais rápido, simples, sensível e preciso (Rodriguez et al., 2009).

Existem poucos estudos na literatura contendo informações sobre a toxicidade de alimentos após o processo de digestão do material. Porém, este tipo de informação é essencial uma vez que a toxicidade de um alimento deve estar provavelmente superestimado quando comparado à fração bioacessível (ou fração dialisada). Segundo Lesniewicz et al. (2012), o teste de bioacessibilidade é a quantidade de composto libertado da matriz durante a digestão gastrointestinal que se torna disponível para absorção no intestino. Nesse método, a digestão gastrintestinal é simulada empregando a pepsina durante a fase gástrica e uma mistura de pancreatina e os sais biliares durante a fase intestinal.

O objetivo deste trabalho foi determinar a composição e o potencial tóxico do maracujá alho desidratado, utilizando o método de bioensaio com uso do microcústáceo *A. salina*, e de forma indireta, concluir se existem compostos perigosos ou tóxicos nesta fruta.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O maracujá alho foi produzido no Campo Experimental da Embrapa, em Paraipaba - CE, e após atingir grau de maturação adequado, foi higienizado (solução de hipoclorito de sódio 100 ppm por 15



minutos), preparada uma massa base com adição de água (proporção de 1,5:1; água, maracujá - polpa, casca e semente) e depois liofilizado para obtenção do maracujá alho desidratado.

2.1. Caracterização do maracujá alho desidratado

Foram realizadas análises de composição centesimal de umidade e lipídeos segundo procedimento descrito por IAL (2008) e cinzas e proteínas de acordo com AOAC (1995). Também foi determinado a atividade de água e pH de acordo com AOAC (1995) e a acidez total titulável, segundo IAL (2008).

O conteúdo de polifenóis extraíveis totais foi determinado conforme Larrauri et al. (1997) e atividade antioxidante total pelo ensaio ABTS^{•+} (radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) foi determinada de acordo com RE et al. (1999) adaptado por Rufino et al. (2007).

Os resultados apresentados neste estudo correspondem à média de três repetições ($n=3$) \pm desvio padrão da média. O coeficiente de correlação foi determinado entre o conteúdo de polifenóis totais e a atividade antioxidante total, utilizando o programa *Statistica*, versão 10.

2.2. Avaliação da toxicidade do maracujá alho

A avaliação do potencial tóxico com uso de ovos do microcrustáceo *A.salina* foi realizada levando-se à eclosão dos ovos em solução salina (sal marinho a 3%), em ambiente com temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, sob iluminação e aeração constante e observando-se a formação dos nauplios de *A. salina* após 24 h, de acordo com Meyer et al. (1982).

Para a avaliação de toxicidade do material foram preparadas suspensões com concentração de maracujá alho desidratado em solução salina 3% (0,1 a 5 mg maracujá por mL), filtradas e colocadas em placas de Petri (contendo 30 mL da solução) juntamente com 10 unidades eclodidas de microcrustáceo e foi observado a motilidade dos nauplios após 24 horas de contato com a solução. Unidades sem motilidade foram consideradas mortas, sendo calculada a sobrevivência em cada concentração. Os testes foram feitos em triplicata, para cada concentração estudada, e também foi feita uma amostra controle contendo somente solução salina 3%.

Também foi efetuada a avaliação de toxicidade do maracujá alho desidratado após passar por digestão *in vitro*, sendo a digestão gastrointestinal efetuada com pepsina durante a fase gástrica e pancreatina e sais de bile durante a fase intestinal, seguindo método descrito por Luten et al. (1996). Ao final do processo, o conteúdo da membrana chamado de dialisado, foi retirado e as amostras foram armazenadas sob refrigeração até o momento das análises. Do material dialisado, foram preparadas também as soluções com concentração de 0,1 a 5 mg.L⁻¹ e avaliada a toxicidade do material, seguindo o mesmo procedimento da análise realizada no maracujá alho desidratado, descrito anteriormente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização do maracujá alho desidratado

Os resultados obtidos nas análises de caracterização do maracujá-alho desidratado estão apresentados na Tabela 1. Em relação às análises físico-químicas e de composição centesimal, o maracujá alho desidratado apresentou valores semelhantes para umidade e cinzas aos encontrados na literatura para casca de maracujá azedo (*P. edulis*), porém os valores de lipídios e proteínas do presente estudo foram bem superiores, isso pode ser devido a presença das sementes no material analisado. Córdova et al. (2005) obteve valor médio de 1,50 g 100 g⁻¹ para proteínas e 0,80 g 100 g⁻¹ para lipídios em casca de maracujá (*P. edulis*) seca em estufa à vácuo a 70 °C por 3 horas. Cazarin et al. (2014) encontrou valor médio de 0,43 para atividade de água, 9,48 g 100 g⁻¹ para umidade e 6,88 g



100 g⁻¹ para cinzas em farinha da casca de maracujá (*P. edulis*). Souza et al. (2008) constatou um teor de 6,09 g 100 g⁻¹ para umidade em farinha de casca de maracujá.

Tabela 1 - Caracterização físico-química, composição centesimal, teor de polifenóis e atividade antioxidante do maracujá alho (*Passiflora tenuifila* Killip) desidratado.

Análises	Resultados
Composição:	
- Umidade (g 100 g ⁻¹)	4,987 ± 0,053
- Cinzas (g 100 g ⁻¹)	6,290 ± 0,458
- Proteínas (g 100 g ⁻¹)	8,773 ± 0,204
- Lipídios (g 100 g ⁻¹)	10,926 ± 0,047
- Carboidratos (g 100 g ⁻¹)	69,193 ± 0,562
pH	4,883 ± 0,040
Atividade de água	0,295 ± 0,003
Acidez total titulável (g ácido cítrico 100 g ⁻¹)	2,782 ± 0,163
Polifenóis Extraíveis Totais (mg ácido gálico 100g ⁻¹)	1151,335 ± 14,463
Atividade Antioxidante Total (µM Trolox g ⁻¹)	109,712 ± 3,018

Valores expressos por média ± desvio-padrão (n = 3). Trolox: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid.

O baixo teor de umidade e atividade de água da maracujá alho é coerente com o processo de secagem ao qual foi submetido, encontrando-se em conformidade com o recomendado pela Legislação Brasileira vigente, que estabelece um valor máximo de 15 % para farinhas de espécies de frutos (Brasil, 2005).

A correlação entre a média dos valores de polifenóis totais e a média dos valores de atividade antioxidante total do maracujá alho desidratado foi de 0,554, indicando uma correlação positiva entre essas variáveis. Diante disso, verifica-se que os compostos fenólicos possuem importante contribuição na atividade antioxidante.

3.2. Avaliação da toxicidade do maracujá alho

O efeito de toxicidade do maracujá alho desidratado sobre os nauplios de *Artemia salina* são apresentados na Tabela 2, e também na forma gráfica, na Figura 2, tanto para material filtrado quanto para o dialisado. Considerando-se o gráfico, pode-se observar que a DL₅₀ foi de 3,6 mg mL⁻¹ para a solução de maracujá alho filtrado, e de 3,4 mg mL⁻¹ para o material dialisado.

Tabela 2 - Valores médios dos nauplios de *A. salina* sobreviventes após 24 h de exposição a solução salina contendo diferentes concentrações de maracujá alho filtrado e dialisado.

Concentração de maracujá alho (mg mL ⁻¹)	Maracujá alho filtrado		Maracujá alho dialisado	
	Média*	%**	Média*	%**
0	10 ± 0,00	100	10 ± 0,00	100
0,1	10 ± 0,00	100	10 ± 0,00	100
1	10 ± 0,00	100	9,3 ± 0,58	93,3
2	10 ± 0,00	100	-	-
3	10 ± 0,00	100	-	-
3,25	10 ± 0,00	100	-	-
3,5	8,7 ± 0,58	86,7	4,3 ± 4,16	43,3
3,75	2,0 ± 1,73	20,0	-	-
4	1,3 ± 1,53	13,3	3,0 ± 1,73	30,0
5	0 ± 0,00	0	1,3 ± 1,15	13,3

Valores expressos por média ± desvio-padrão (n = 3). *Número de nauplios sobreviventes. **Percentual de nauplios sobreviventes.

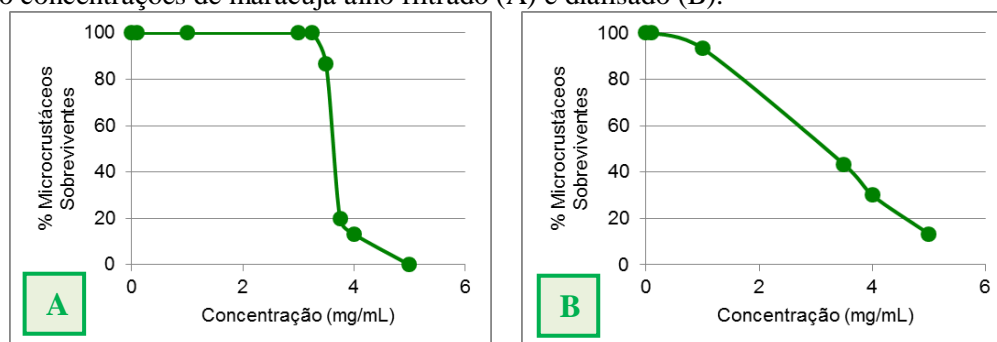


Como o maracujá alho é preparado por trituração da polpa, cascas e sementes e o primeiro teste de toxicidade teve removido por filtração os materiais insolúveis ou particulados, esperava-se menor toxicidade, o que foi confirmado pelo resultado. Já o material submetido à digestão *in vitro*, que expõe maior quantidade de compostos, apresentou menor valor de DL_{50} .

Os valores de DL_{50} do maracujá alho desidratado indicam maior toxicidade que os apresentados por Fonseca et al. (2013), que avaliaram a toxicidade de extratos de sementes de frutas do Cerrado, pelo bioensaio com *A. salina*, obtendo valores de DL_{50} de $11,7 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (extrato de semente de araticum), de $24,07 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (extrato de semente de mangaba), de $57,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (extrato de semente de cagaita), e $47,67 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (extrato de semente de tucumã).

Resultados com DL_{50} próximos aos do maracujá alho foram obtidos por Rodrigues et al. (2009) ao avaliar polpa de batata in natura (DL_{50} de $3,45 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), batata frita (DL_{50} de $6,4 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e casca de batata (DL_{50} de $0,11 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Figura 2 - Gráficos de sobrevivência de nauplios de *A. salina* após 24 de exposição a solução salina contendo concentrações de maracujá alho filtrado (A) e dialisado (B).



De acordo com Meyer et al. (1982), são considerados atóxicos os produtos que apresentam DL_{50} maior que a concentração de $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, e desta forma, o maracujá alho desidratado pode ser considerado como não tóxico.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que o maracujá alho desidratado não apresenta toxicidade, tanto para o material filtrado quanto dialisado, pelo bioensaio com *Artemia salina*. Em relação aos parâmetros físico-químicos, composição centesimal e compostos bioativos, apresentou uma alta qualidade nutricional, com maior ênfase no conteúdo de polifenóis totais e antioxidantes, apresentando potencial para ser utilizada como matéria-prima no processamento de diversos produtos alimentícios.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (1995). Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (16. ed.). Arlington: AOAC.

Braga, M. F.; Batista, A.D.; Junqueira, N.T.V.; Junqueira, K.P.; Vaz, C.F.; Santos, E.C., & Santos, F.C. (2005). Características agrônômicas, físicas e químicas de maracujá-alho (*Passiflora tenuiflora* Killip) cultivado no Distrito Federal. In *4ª Reunião técnica de pesquisa em maracujazeiro*, Planaltina, Embrapa Cerrados, Brasil.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2005). Aprova o Regulamento Técnico para Produto de Cereais, Amido, Farinhas e Farelos (Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005). Diário Oficial da União.



- Cazarin, C. B. B., Silva, J. K., Colomeu, T. C., Zollner, R. L., & Maróstica Junior, M. R. (2014). Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). *Ciência Rural*, 44(9), 1699-704.
- Córdova K. R., Gama, T. M. M. T. B., Winter, C. M. G., Kaskantzis Neto, G., & Freitas, R. J. S. (2005). Características Físico-Químicas Da Casca Do Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa Degener) Obtidos Por Secagem. *Boletim do CEPPA*, 23(2), 221-30.
- Costa, A. M., & Tupinambá, D. D. (2005). O maracujá e suas propriedades medicinais: estado da arte. In: Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V.; Braga, M. F. (Ed.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados.
- Dhawan, K., Dhawan, S., & Sharma, A. (2004). *Passiflora: a review update*. *Journal of Ethnopharmacology*, Lausanne, 94(1), 1-23.
- Fonseca, R. C., Souza, N. A., Correa, T. C. L., Garcia, L. F., Reis, L. G. V., & Rodriguez, A. G. (2013). Assessment of toxic potential of Cerrado fruit seeds using *Artemia salina* bioassay. *Food Science and Technology*, Campinas, 33(2), 251-256.
- IAL - Instituto Adolfo Lutz. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Odair Zanebon, O.; Pascuet, N. S.; Tiglea, P. (Coord). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.
- Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1390-1393.
- Leśniewicz, A., Kretowicz, M., Wierzbicka, K. & Żyrnicki, W. (2012). In Vitro Bioavailability of Mineral Nutrients in Breakfast Cereals. *Journal of Food Research*, 1(2), 291-300.
- Lima, H. C. Definição do ponto de maturação de *Passiflora tenuifila*. Palestra. Congresso Brasileiro de Fruticultura, Natal, 2010.
- Luten, J., Crews, H., & Flynn, A. (1996). Interlaboratory trial of the determination of the in vitro iron dialysability from food. *Journal of Science and Food Agriculture*, 72(4), 415-424.
- Madalena, J. O., Costa, A. M., & Lima, H. C. (2013). Avaliação de usos e conhecimentos de maracujás nativos como meio para definição de estratégias de pesquisa e transferência de tecnologia. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, Brasília, 30(1/3), 55-72.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a conveniente general bioassay for active plant constituents. *Journal of Plant Medicinal Plant Research*, 45, 31-34.
- Souza, M. V. S., Ferreira, T. B. & Vieira, I. F. R. (2008) Composição centesimal e propriedades funcionais tecnológicas da farinha da casca do maracujá. *Alimentos e Nutrição*, 19(1), 33-6.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26 (9/10), 1231-1237.
- Rodriguez, A. G., Teixeira, O. M., Salles, F. G., Vital, J. P., & Peixoto, D. S. (2009). Bioensaio com artemia salina para detecção de toxinas em alimentos vegetais. *Estudos*, Goiânia, 36(5/6), 795-808.
- Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Moraes, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{•+}. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. (Embrapa Agroindústria Tropical, Comunicado Técnico, 128).
- Vetore Neto, A. (2015). *Avaliação da atividade antiúlcera e segurança de uso de Passiflora setacea D.C (Passifloraceae) e Passiflora tenuifila Killip (Passifloraceae)* (Dissertação de Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Zeraik, M. L., Pereira, C. A. M., Zuin, V. G., & Yariwake, J. J. (2010). Maracujá: um alimento funcional? *Revista Brasileira De Farmacognosia*, 20(3), 459-471.