

TOXICIDADE DE PRODUTOS NATURAIS E A ARTEMIA SALINA

Bruna Fernandes de Souza Santos

Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – *Campus* Sete Lagoas

Gabriela Lorrane Moreira Oliveira

Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – *Campus* Sete Lagoas

Gabriella Roberta Silva Oliveira

Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – *Campus* Sete Lagoas

Ana Carolina do Carmo Mazzinghy

Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – *Campus* Sete Lagoas

Ana Luiza Coeli Cruz Ramos

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Vinícius Serafim Coelho

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Viviane Dias Medeiros Silva

Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – *Campus* Sete Lagoas

Cleber José da Silva

Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – *Campus* Sete Lagoas

Raquel Linhares Bello de Araújo

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Júlio Onésio Ferreira Melo

Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) – *Campus* Sete Lagoas

RESUMO

Artemia salina ou, simplesmente, artêmia é um microcrustáceo com capacidade de sobreviver em habitats hipersalinos. Esta espécie tem facilidade de reprodução, o que favorece seu uso em ensaios de toxicidade. Este teste baseado em artêmia é rápido, fácil, eficiente, abrangente e de baixo custo, sendo amplamente empregado em pesquisas e toxicologia aplicada. Tem sido utilizado no estudo de um amplo espectro de produtos naturais como ensaio preliminar de toxicidade para triagem de extratos e compostos para descoberta de medicamentos em plantas medicinais bem como de partes de plantas que não são usualmente consumidas ou utilizadas. Neste contexto, o objetivo desta revisão foi abordar a metodologia para avaliação da toxicidade de substâncias vegetais frente a *A. salina* e suas diversas aplicações, como na aquicultura, no desenvolvimento de produtos naturais e de medicamentos, na avaliação da qualidade de efluentes e na fotomedicina, destacando alguns estudos relacionados com as árvores e frutos nativos brasileiros.

Palavras-chave: Artêmia, Ensaio Preliminar, Extrato Vegetal, Organismo-Teste, Frutos Nativos.

INTRODUÇÃO

Como meio de defesa a fatores bióticos (animais, microrganismos) ou abióticos (fatores ambientais), as espécies vegetais produzem uma ampla quantidade de compostos secundários que, através da ingestão, inalação ou contato, podem vir a ser tóxicas para o ser humano (CAMPOS *et al.*, 2016; JOÃO; RAGA, 2016; TORRES *et al.*, 2005).

O estudo da toxicidade em alimentos avalia a capacidade dos produtos causarem danos à saúde humana, sendo interligado intimamente com a presença de um ou mais componentes tóxicos em sua composição e que, por sua vez, relacionam-se com a natureza da substância, concentração, exposição, frequência e tempo que o alimento é ingerido e, principalmente, com a susceptibilidade individual de cada organismo (MIDIO; MARTINS, 2000).

Além disso, a toxicidade também é influenciada por diferentes fatores biológicos, como: idade do indivíduo, peso corporal, temperatura, fatores genéticos que facilitam algumas reações, patologia, estados nutricionais e, principalmente, a finidade da substância tóxica com o organismo humano e alguns fatores individuais de cada elemento (CAZARIN *et al.*, 2004).

A Portaria nº 116 de 1996, da Secretaria de Vigilância Sanitária, dispõe sobre a normatização dos estudos de toxicidade crônica e aguda tanto para produtos fitoterápicos quanto para a validação dos processos tecnológicos a partir de vegetais (BRASIL, 1996). Tais estudos visam complementar os ensaios biológicos a fim de selecionar espécies tóxicas ao organismo humano (BEDNARCZUCK *et al.*, 2010).

Existem diversas formas para se determinar o efeito toxicológico nos alimentos sendo, os principais, os ensaios realizados *in vivo* ou *in vitro*, que determinam a concentração limite que o ser vivo pode ingerir sem causar dano à sua saúde (MOURA *et al.*, 2012).

Os testes *in vivo* utilizam roedores ou não roedores de, pelo menos, três espécies. Estes animais são submetidos a concentrações distintas da substância em questão para indicar o nível, a duração e a natureza da intoxicação. Para sua verificação, são realizados exames patológicos e clínicos nos animais durante toda a análise (BRASIL, 1996). É um estilo de teste que pode abordar três vertentes de toxicidade: aguda, subcrônica e crônica (VILAS BOAS, 2006).

Na toxicidade aguda, utilizam-se diferentes doses da substância teste aos grupos de animais, podendo chegar a cerca de 2000 mg/kg. O animal fica em observação por 15 dias após a administração de apenas uma dose elevada da substância analisada, para verificar se houve morte (VALADARES, 2006).

Já na toxicidade crônica e subcrônica, os animais ficam em observação por seis e três meses, respectivamente. Esses ensaios têm como objetivo avaliar se a exposição prolongada do animal à substância avaliada pode causar efeitos tóxicos por um período maior de tempo (VILAS BOAS, 2006). Contudo, devido a mobilizações sociais de organizações protetoras dos animais, cada vez mais os testes com animais vertebrados estão sofrendo restrições, vindo a serem substituídos, principalmente, por ensaios com animais invertebrados (NTUNGWE et. al., 2020).

Em contrapartida, os testes *in vitro* são alternativas viáveis com crescente utilização, pois diminuem a utilização de roedores no laboratório. Podem ser realizados com bactérias, fungos, cultivos celulares, enzimas ou proteínas para as pesquisas de citotoxicidade, além dos executados com algas e crustáceos. Do grupo representando estes últimos organismos, tem-se o teste baseado na *Artemia salina*, metodologia desenvolvida primeiramente para identificar compostos bioativos, mas que pode avaliar sua letalidade e, conseqüentemente, o potencial tóxico das substâncias isoladas ou de seus extratos (FRAZIER, 1992; HIROTA et al., 2012; MEYER et al., 1982; MOURA et al., 2012).

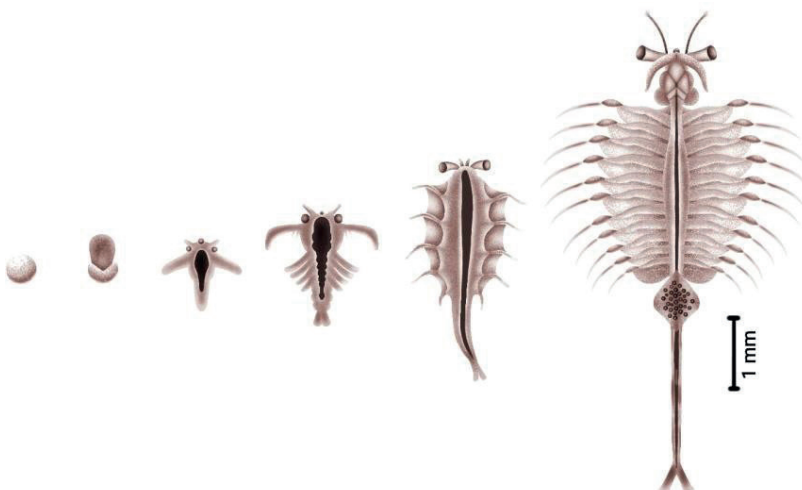
A *A. salina* é um microcrustáceo marinho do filo Artrópode, família Artemiidae e ordem Anostraca. É um artrópode primitivo com corpo segmentado revestido de quitina fina. Por ser de águas salgadas, é utilizado como alimento para pequenos peixes devido ao seu alto valor nutritivo (CARVALHO et al., 2009; NTUNGWE et. al., 2020). Pode apresentar-se com diferentes colorações pois, essa característica depende de sua alimentação. Além disso, possui habilidade aquática de nadar com a parte ventral voltada para cima e para a luz, estando sempre em movimento para se alimentar e respirar (ASEM, 2008; BEDNARCZUCK, 2010).

Este microcrustáceo é empregado nos testes laboratoriais preliminares de toxicidade como bioindicador por sua baixa tolerância a fatores ambientais específicos, apresentando assim, facilidade nas respostas a pequenas variações

no ambiente em que está inserido (ABEL, 1989; BUENO e PIOVEZAN, 2015; CALOW, 1993; LIMA *et al.*, 2009).

Considerada prolífica, a artêmia se reproduz facilmente, produzindo cistos dormentes que, quando inseridos em ambientes favoráveis contendo água salinizada, concentração adequada de oxigênio e temperatura, eclodem, dando origem ao seu estágio larval conhecido como náuplios que são utilizados nos testes. Após eclodidos, os ovos da *A. salina* tem duração máxima de até três meses, porém, podem permanecer dormentes por anos (CORRÊA, 2011; VAN STAPPEN, 1996). Na Figura 1 estão representados os estágios de vida da *A. salina*, desde ovo até náuplio.

Figura 1. Estágios de vida da *A. salina*.



Fonte: Ilustração feita por Lucas Victor Ribeiro (2023).

Meyer *et al.* (1982) estabeleceram uma relação direta entre o grau de toxicidade de algumas espécies e a dose letal média do microcrustáceo, sendo CL50, ou seja, quando se verificar valores superiores a 1000 µg/mL e não ocorrendo morte acima de 50%, o objeto de estudo pode ser considerado atóxico.

A utilização deste microcrustáceo nos experimentos é uma alternativa importante contra os testes com roedores e camundongos pois, apresentam inúmeras vantagens, como: baixo custo, praticidade em sua manipulação e cultivo, incubação rápida, manutenção simples das condições laboratoriais e,

principalmente, o teste com a *A. salina* revela todo e qualquer composto tóxico que cause sensibilidade ao bioindicador, mostrando-se um indicador não-seletivo em relação à especificidade da toxina alvo (FERREIRA *et al.*, 2018; FONSECA *et al.*, 2013; LIBRALATO *et al.*, 2016; MANFRA *et al.*, 2012).

Portanto, o objetivo desta revisão foi abordar a metodologia para avaliação da toxicidade de substâncias vegetais frente a *A. salina* e suas diversas aplicações, com destaque para os estudos sobre toxicidade das árvores e frutos nativos da região do semiárido brasileiro, englobando aqueles da transição Cerrado/Caatinga, como pequi, araticum, cagaita, marmelo do Cerrado, japecanga e umbu.

METODOLOGIA DO TESTE DE TOXICIDADE COM *ARTEMIA SALINA*

Cultivo dos ovos e dos náuplios de *Artemia salina*

Os ovos e náuplios de artêmia devem ser cultivados sob condições controladas de temperatura e luminosidade para garantir um ambiente estável e fértil, conforme descrito por Meyer *et al.* (1982).

A temperatura deve ser mantida entre 27 e 30 °C, controlada com termostato. Além disso, a luminosidade deve ser ajustada para 800 Lumens, empregando fontes de iluminação específicas e o pH deve ser mantido entre 8,0 e 9,0. Também, é essencial promover a oxigenação da água, garantindo a sua qualidade e a sobrevivência dos crustáceos. Desse modo, a água pode ser oxigenada utilizando um aerador comercial projetado para aquários.

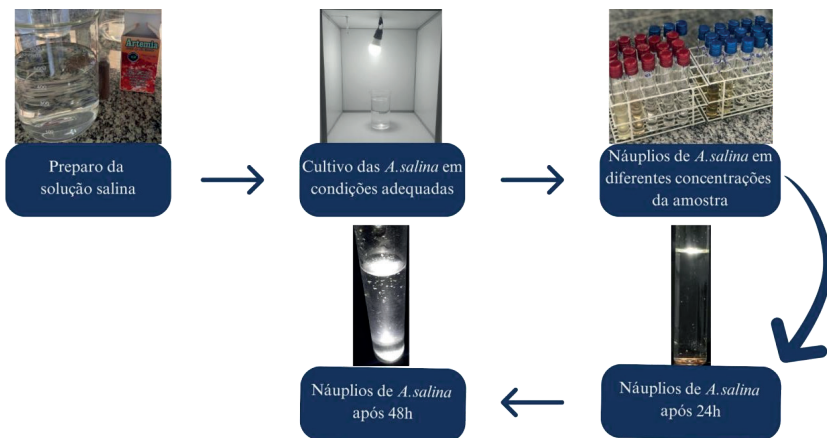
Para alimentar as artêmias e garantir sua inocuidade alimentar, o meio de cultivo utilizado é uma solução salina preparada com 35,5 g de sal marinho (NaCl) em 1 litro de água destilada. O sal marinho utilizado deve ser isento de iodo, para evitar qualquer influência deste no experimento. Após o preparo do meio de cultivo, os ovos da artêmia podem ser incubados neste ambiente controlado. A quantidade de ovos adicionada nesta solução é variável, conforme estudos na literatura que relatam diferentes concentrações, como 10 mg dos ovos em 100 mL de solução salina (RODRIGUES *et al.*, 2012); 250 mg em 1 L (TOLOUEI *et al.*, 2020); 25 mg em 2 L (CASCAES *et al.*, 2022); 200 mg em

400 mL (SILVA *et al.*, 2023). A eclosão dos ovos para liberação dos náuplios ocorre, aproximadamente, após 24 horas de cultivo.

Bioensaio com os extratos vegetais

A Figura 2 representa as etapas do bioensaio para avaliação da toxicidade de extratos vegetais frente a *A. salina*. Para a avaliação da toxicidade de extratos vegetais, estes devem ser preparados em diferentes concentrações, por meio de diluições seriadas. A faixa de concentração pode ser determinada considerando a concentração máxima em que 100% da mortalidade foi observada e a concentração em que não houve registro de morte de *A. salina*, conforme foi analisado por Rodrigues *et al.* (2012).

Figura 2. Esquema geral do ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina*.



Fonte: Autores (2023).

Neste ensaio, além das amostras, são utilizados controles. Para o controle negativo, utiliza-se a solução salina de cultivo sem a adição do extrato. Para o controle positivo, pode ser utilizado dicromato de potássio (0,1%), visto que apresenta alta toxicidade para a artêmia, sendo capaz de causar a morte de um grande número de larvas dentro de um período de 24 horas (HOCAYEN *et al.*, 2012). Outros controles positivos também usados são: ácido acético glacial, dimetilsulfóxido puro (NTUNGWE *et al.*, 2020), cloreto de berberina (26 µg/

mL) (GOHARI *et al.*, 2009), permanganato de potássio (5 µg/mL) (BAPNA *et al.*, 2015), sulfato de quinidina (10 a 750µL/mL e puro) (GATTO *et al.*, 2020), e timol (1 mg/mL) (AJIBOLA *et al.*, 2020).

Após determinar a faixa de concentração dos extratos, os náuplios de *A. salina* são adicionados aos tubos de ensaio com auxílio de uma pipeta para realização da análise. Os náuplios são atraídos pela fonte de iluminação para um lado do recipiente, facilitando a diferenciação com os ovos (NTUNGWE *et al.*, 2020). Com isso, dez náuplios de *A. salina* são transferidos para cada tubo de ensaio contendo 9 mL da solução salina e 1 mL de cada diluição das amostras, em triplicata (SILVA *et al.*, 2019).

A contagem dos crustáceos mortos é realizada após 24 e 48 horas da eclosão dos ovos. A porcentagem de morte dos náuplios de *A. salina* pode ser determinada por meio da Equação 1, descrita por Silva *et al.* (2019).

$$M_{as} = \sum \left(\frac{Q_{ams} - Q_{amb}}{Q_{at}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Em que: M_{as} = porcentagem de morte de *A. salina*; Q_{ams} = quantidade de *A. salina* morta no sistema avaliado; Q_{amb} = quantidade de *A. salina* morta na solução salina (controle negativo); Q_{at} = quantidade total de *A. salina* adicionada em cada sistema.

A DL50 (dose letal 50%) pode ser calculada por meio da equação obtida com o melhor ajuste do modelo usando a regressão parcial de mínimos quadrados.

ARTEMIA SALINA E SUAS APLICAÇÕES: DA AQUICULTURA À FOTOMEDICINA.

As *A. salinas*, comumente conhecidas como “artêmias salgadas” ou “artêmias de salina”, desempenham um papel de suma importância na aquicultura e na cadeia alimentar aquática. Estes pequenos crustáceos, encontrados em ambientes de água salgada, são altamente valorizados devido à sua notável capacidade de reprodução e ao seu alto valor nutricional. Campelo *et al.* (2020) verificaram que pós-larvas do peixe ornamental amazônico acará severo (*Heros severus*) que foram alimentados apenas com artêmia apresentaram os

maiores valores de peso final e de ganho de peso. Conforme destacado neste estudo, a seleção adequada de alimentos desempenha um papel crucial na criação deste peixe, influenciando significativamente seu desenvolvimento e a eficácia da produção.

No estudo de Gerola *et al.* (2013), a *A. salina* foi utilizada como um sistema biológico simples e acessível para investigar como a formulação da feofitina, um fotossensibilizador usado na terapia fotodinâmica, afeta a ação fotodinâmica em sistemas micelares. A mortalidade das artêmias foi adotada como medida da eficácia da terapia fotodinâmica, e os pesquisadores observaram que fatores como a concentração de feofitina, a porcentagem do surfactante e o tempo de exposição à luz desempenharam um papel significativo na capacidade da feofitina de induzir a morte desses microcrustáceos. Esses resultados forneceram informações valiosas para o entendimento desse sistema de pesquisa.

O ensaio com *A. salina* tem sido muito utilizado para avaliar a citotoxicidade de diversas substâncias presentes em extratos vegetais (AMADO *et al.*, 2018; BEKKAI *et al.*, 2022; CAVALCANTE *et al.*, 2020; LÓPEZ-ÂNGULO *et al.*, 2022; RAHAMOUZ-HAGHIGHI; SHARAFI, 2023; SEREMET *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2023); óleos essenciais (ARRUDA *et al.*, 2023; CASCAES *et al.*, 2022; MITIĆ *et al.*, 2022); nanopartículas (ANAYA-ESPARZA *et al.*, 2019; RAGAVENDRAN *et al.*, 2023) e pesticidas (VIVEKANANDHAN *et al.*, 2022). Além disso, a artêmia também já foi utilizada para avaliar a toxicidade de efluentes têxteis (OLIVEIRA *et al.*, 2023; REDDY; OSBORNE, 2020).

Dessa forma, podemos concluir que a *A. salina* desempenha um papel de destaque tanto na aquicultura quanto na pesquisa científica de diferentes áreas. Além disso, pode ser utilizada como um sistema biológico simples e acessível em estudos científicos (GEROLA *et al.*, 2013). Esses trabalhos destacam a versatilidade e a importância da *A. salina* tanto na prática quanto na pesquisa biológica, ambiental e médica, contribuindo para diversos campos, como na aquicultura, no desenvolvimento de produtos naturais e de medicamentos, na avaliação da qualidade de efluentes e na fotomedicina.

ARTEMIA SALINA COMO ORGANISMO-TESTE: CARACTERÍSTICAS E IMPORTÂNCIA

As artêmias são amplamente utilizadas como organismo-teste em estudos de toxicidade e bioensaios devido à sua sensibilidade a diferentes substâncias tóxicas, tornando-se uma ferramenta valiosa na avaliação da segurança de compostos químicos. Os resultados obtidos a partir dos testes com *A. salina* fornecem uma percepção crucial sobre a toxicidade potencial de produtos naturais, e desempenham um papel fundamental na determinação da segurança de produtos químicos e substâncias em desenvolvimento (SILVA *et al.*, 2010).

Esse microcrustáceo possui anatomia simples, ciclo de vida curto, alta taxa de reprodução, facilidade de manutenção no ambiente de trabalho, baixo custo e é facilmente disponível, sendo assim, altamente vantajoso em aplicações científicas e industriais. Sua facilidade de reprodução permite a obtenção de grandes populações em curtos períodos de tempo, tornando-a uma opção econômica para bioensaios e estudos de toxicidade. Além disso, essa característica contribui para a disponibilidade constante desses organismos em diversas aplicações (NTUNGWE *et al.*, 2020; ROSA *et al.*, 2016).

O uso das artêmias em testes de toxicidade de substâncias para uso em humanos se deve a sua semelhança genética com o nosso organismo. Já foi observada a presença de proteínas de choque térmico 70 (Hsp70), família de proteínas altamente conservadas que respondem ao estresse ambiental, em espécies de artêmia bem como em humanos (NTUNGWE *et al.*, 2020).

Contudo, conforme relatado por Ntungwe *et al.* (2020), a utilização de artêmia como organismo-teste deve ser avaliada, pois a sua toxicidade parece depender da amostra que está sendo testada. Segundo esses autores, substâncias que exercem o efeito tóxico por meio de várias vias metabólicas basais podem não ser ativas no ensaio de artêmia. Desta forma, é aconselhável utilizar também outros ensaios para confirmar a toxicidade de amostras com este perfil.

Portanto, apesar de algumas limitações, a *A. salina* desempenha um papel importante para a comunidade científica mundial, como organismo-teste para avaliar a atividade biológica e a toxicidade geral de diversos produtos naturais.

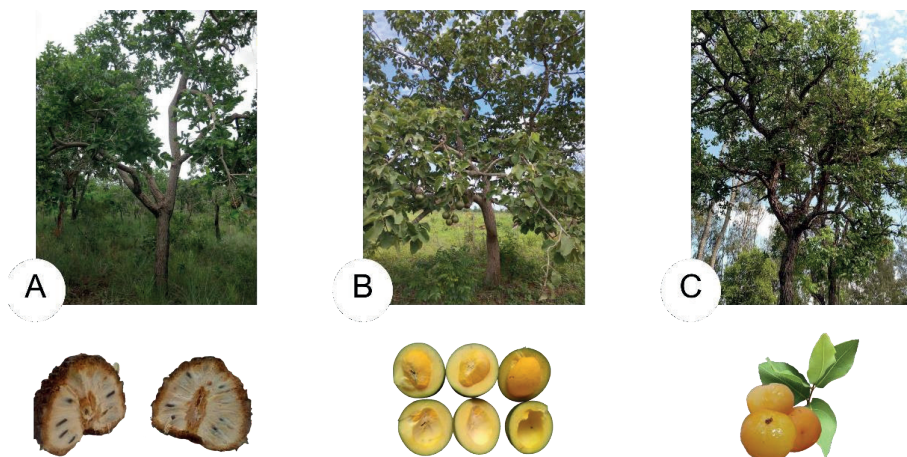
ÁRVORES E FRUTOS NATIVOS BRASILEIROS: TOXICIDADE E ARTEMIA SALINA

A região semiárida brasileira se estende pelos estados do Nordeste e pelo norte de Minas Gerais (INSA, 2023). Esta região é um ecótono com transição entre os biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, caracterizada pela grande variabilidade e vulnerabilidade climática, com secas periódicas que provocam baixa oferta de água e reduzem a produção agrícola causando escassez de alimentos (SUDENE, 2021). Apesar disso, possui uma flora rica em diversas espécies com grande potencial de utilização agrícola. As árvores frutíferas endêmicas da região semiárida têm a capacidade de se adaptar às condições de clima e solo e produzem mesmo em épocas de estiagem prolongada (COSTA, 2011).

O Cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul e se destaca pela grande biodiversidade, que vai desde as suas plantas nativas até a sua riqueza no reino animal. No Brasil, ele ocupa a segunda colocação em extensão territorial, abrangendo cerca de 25% do território brasileiro, apresentando-se como o único bioma contido em todas as regiões (REIS; SCHMIELE, 2019; SOARES *et al.*, 2017; WEICHERT *et al.*, 2023), incluindo a região semiárida brasileira (14,4%) (MARINHO, 2015).

Suas espécies nativas arbóreas são conhecidas pelos ramos tortuosos e grossos e, seus frutos pelos atributos sensoriais peculiares, contendo cores vibrantes, aromas e sabores característicos (Figura 3). Além de serem constituídos por um alto valor nutritivo e compostos bioativos com propriedades antioxidantes que auxiliam na manutenção do funcionamento do corpo humano (MARIANO *et al.*, 2020; NOGUEIRA *et al.*, 2022; RAMOS *et al.*, 2022a,b; 2023; SANTOS *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2019). Devido a isso, são atrativos para o consumo in natura ou utilizados na culinária regional no desenvolvimento de produtos, como: doces, bebidas, bolos, sorvetes, pães, entre outros pratos alimentícios que auxiliam, principalmente, na renda dos pequenos produtores (DIAS *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2021).

Figura 3. Exemplos de árvores do Cerrado com seus respectivos frutos.



A:Araticunzeiro e seu fruto araticum; B: Pequi e seu fruto pequi; C:Cagaiteira e seu fruto cagaita.

Fonte: Autores (2023).

Apesar dos benefícios inegáveis, os frutos do Cerrado ainda são pouco conhecidos e consumidos pela população diversa e, mesmo quando ingeridos, consome-se apenas sua polpa, descartando partes como casca ou semente que, da mesma forma, podem conter compostos nutritivos. Tal descarte aumenta o desperdício e, conseqüentemente, diminui o valor agregado dos frutos, visto que, como não são ingeridas, tornam-se partes pouco estudadas, mas que podem conter características nutritivas ou tóxicas (MOURA *et al.*, 2012).

Ramos *et al.* (2022b; 2023) verificaram que a casca e a semente de araticum (*Annona crassiflora*) contêm diversos compostos, como acetogeninas e alcaloides, e possuem significativa atividade antioxidante. A casca de pequi foi utilizada para o preparo de uma farinha, que apresentou altos níveis de compostos fenólicos e atividade antioxidante, indicando o seu potencial uso como ingrediente alimentício (SANTOS *et al.*, 2022).

Contudo, pesquisas avaliando o efeito toxicológico de cascas e sementes dos frutos do Cerrado ainda são escassas. Arruda, Cruz e Almeida (2012) avaliaram a toxicidade do extrato do farelo da casca do pequi (*Caryocar brasiliense*) e obtiveram concentração letal de 0,31 mg/mL em camundongos. Roesler, Lorencini e Pastore (2010) observaram a toxicidade dos extratos da casca e semente do araticum (*A. crassiflora*), cagaita (*Eugenia dysenterica*) e pequi.

Neste estudo, os extratos etanólicos da semente de araticum e de casca de pequi apresentaram baixo potencial citotóxico, enquanto os extratos contendo a casca do araticum e semente de cagaita apresentaram citotoxicidade apenas em concentrações superiores a 300 µg/mL.

O pequi (*C. brasiliense*) é um dos frutos nativos mais conhecidos e consumidos pela população do Cerrado brasileiro. Tanto a polpa quanto o óleo desse fruto são fontes de flavonoides e carotenoides, conferindo ao pequi propriedade antioxidante (BRITO *et al.*, 2022). O óleo da polpa de pequi é muito utilizado na culinária e tem grande potencial farmacêutico, diante disso, Traesel *et al.* (2017) avaliaram a sua toxicidade em diferentes concentrações frente a *A. salina* e concluíram que o óleo da polpa de pequi analisado tem baixa toxicidade.

O marmelo do Cerrado (*Alibertia edulis* (Rich.) A. Rich. ex DC) é uma planta nativa do Cerrado brasileiro cujas folhas são usadas na medicina popular devido suas atividades anti-hipertensiva, antitumoral, diurética e hipoglicemiante (TOLOUEI *et al.*, 2020). Tolouei *et al.* (2020) verificaram que o extrato aquoso das folhas apresentou certa toxicidade com o ensaio da *A. salina*, contudo, não alterou a viabilidade celular das plaquetas e não apresentou citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade nas doses testadas em ratos. Portanto, para este caso, não houve correlação significativa entre a toxicidade do ensaio com artêmia e o teste com animal. No trabalho de revisão de Ntungwe *et al.* (2020), os autores discutiram esta questão, em que vários pesquisadores encontraram boa correlação entre o bioensaio com *A. salina* e o ensaio com ratos enquanto outros estudos não concordam com essa correlação. De acordo com esses autores, a avaliação da toxicidade com as artêmias deve ser feita com cautela, sugerindo realizar ensaios toxicológicos mais específicos.

Smilax brasiliensis (Smilacaceae), conhecida como salsaparrilha ou japecanga, é uma planta nativa do Cerrado brasileiro muito utilizada na medicina tradicional no tratamento de artrite, hipertensão, reumatismo, sífilis e doenças de pele (AMADO *et al.*, 2018). Os extratos das folhas (AMADO *et al.*, 2018) e do caule (SILVA *et al.*, 2023) foram avaliados, não apresentando efeito citotóxico em *A. salina*.

Outro bioma existente no semiárido é a Caatinga, que corresponde a 76,6% dessa região e a 11% de todo o território brasileiro. Como o Cerrado, também possui alta biodiversidade de fauna e flora (MARINHO, 2015). O umbu

(*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) é um dos frutos mais representativos desse bioma, pois é uma fonte alternativa de renda para a população local (XAVIER *et al.*, 2022). Contudo, também são poucos os estudos sobre os compostos nutritivos e tóxicos presentes nesta planta. No trabalho de Santos *et al.* (2019), as sementes do umbu foram avaliadas quanto ao potencial citotóxico por meio do ensaio com *A. salina*, apresentando certa toxicidade. Segundo esses autores, o óleo da semente de umbu deve ser melhor analisado antes de ser empregado comercialmente devido ao potencial tóxico.

Portanto, a avaliação da toxicidade em frutos nativos brasileiros ainda é pouco explorada, fazendo-se necessárias mais pesquisas sobre a letalidade das artêmias e, sobretudo, sua efetividade frente diferentes compostos toxicológicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a utilização da *Artemia salina* como teste preliminar e em substituição das análises com animais vertebrados se mostra uma alternativa viável e promissora na área de toxicidade dos alimentos. Contudo, parece que a toxicidade da artêmia depende do mecanismo de ação da amostra avaliada. Assim, faz-se necessário mais estudos e testes utilizando o microcrustáceo para um melhor embasamento teórico-prático sobre sua mortalidade frente as espécies vegetais e frutíferas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), CAPES, CNPq, FAPEMIG (BPD-00858-22), Instituto Brasileiro de Desenvolvimento e Sustentabilidade (IABS) e ao Grupo de Ensino de Pesquisa e de Extensão em Química e Farmacognosia (GEPEQF) pelos equipamentos cedidos para a realização das análises e pelo apoio. E a Lucas Victor Ribeiro (ilustra_luc4s) pelo desenho do processo evolutivo da *Artemia salina*.

REFERÊNCIAS

- ABEL, P. D. *Water Pollution Biology*. Ellis Horwood Ltd, Publishers, Chichester, 2ed, 1989. doi: <https://doi.org/10.1201/9781482295368>.
- AJIBOLA, O. O. et al. Toxicity Assessment of *Lactococcus lactis* IO-1 Used in Coconut Beverages against *Artemia salina* using Brine Shrimp Lethality Test. *Applied Food Biotechnology*, v. 7, n. 3, p. 127-134, 2020.
- AMADO, P.A. et al. Chemical composition, antioxidant and cytotoxic activities of extracts from the leaves of *Smilax brasiliensis* Sprengel (Smilacaceae). *Natural Product Research*, v. 32, n. 5, p. 610-615, 2018.
- ANAYA-ESPARZA, L.M. et al. Effect of TiO₂-ZnO-MgO Mixed Oxide on Microbial Growth and Toxicity against *Artemia salina*. *Nanomaterials*, v. 9, 992, 2019.
- ARRUDA, F. et al. Essential Oil Variability of Azorean *Cryptomeria japonica* Leaves under Different Distillation Methods, Part 2: Molluscicidal Activity and Brine Shrimp Lethality. *Separations*, v. 10, 241, 2023.
- ARRUDA, H. S.; CRUZ, R. G.; ALMEIDA, M. E. F. Caracterização química, funcionalidade e toxicidade do pequi. *Nutrição Brasil*, v. 11, n. 5, p. 315-319, 2012.
- BAPNA, S. et al. Antiplasmodial activity of *Argemone mexicana*: an *in vivo* and *in vitro* study. *World Journal of Pharmaceutical Research*, v. 4, n. 11, p. 1653-1663, 2015
- BEDNARCZUK, V. O. et al. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. *Visão Acadêmica*, [S.l.], v. 11, n. 2, 2010. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/21366/14087>>. Acesso em: 23 set. 2023.
- BEKKAI, D. et al. Determination of the Phenolic Profile by Liquid Chromatography, Evaluation of Antioxidant Activity and Toxicity of Moroccan *Erica multiflora*, *Erica scoparia*, and *Calluna vulgaris* (Ericaceae). *Molecules*, v. 27, 3979, 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 116, de 8 de agosto de 1996. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 1996.
- BRITO, R. M. et al. Bioactive compounds of pequi pulp and oil extracts modulate antioxidant activity and antiproliferative activity in cocultured blood mononuclear cells and breast cancer cells. *Food & Nutrition Research*, v. 66, 2022.
- BUENO, A.; PIOVEZAN, M. Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia. Instituto Federal de Santa Catarina, 2015.
- CALOW, P. Marine and estuarine invertebrate toxicity tests. In: HOFFMAN, D. et al. *Handbook in cytotoxicology*. Oxford: Blackwell Scientific Publication, v. 1. p. 1-5, 1993.
- CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1, p. 373-382, 2016.
- CAMPELO, D. A. V. et al. Utilização de diferentes alimentos na larvicultura do peixe ornamental amazônico Acará Severo. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 3, p. 14035-14049, 2020.
- CARVALHO, C. et al. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers-Bignoniaceae): estudo fitoquímico *Farmácia*, v. 6, n. 1, p. 51-57, 2009.
- CASCAES, M.M. et al. Phytochemical Profile, Antioxidant Potential and Toxicity Evaluation of the Essential Oils from *Duguetia* and *Xylopia* Species (Annonaceae) from the Brazilian Amazon. *Antioxidants*, v. 11, 1709, 2022.

- CAVALCANTE, A. N. et al. Toxicity, cytotoxicity, mutagenicity and in vitro antioxidant models of 2-oleyl-1,3-dipalmitoyl-glycerol isolated from the hexane extract of *Platonia insignis* MART seeds. *Toxicology Reports*, v. 7, p. 209–216, 2020.
- CAZARIN, C. C. K. et al. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, n. 3, p. 289-199, 2004.
- CORRÊA, J. M.; PENAFORT, J. M. Considerações sobre biologia e utilização de *Artemia* sp. (CRUSTACEA: BRANCHIOPODA: ANOSTRACA). *RETVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, v. 12, n. 12, p. 1-11, 2011.
- COSTA, T. P. Frutas da Caatinga: Gerando Sustentabilidade em Áreas Recaatingadas no Semiárido. IRPAA - Instituto Regional da Pequena Agropecuária Apropriada, Juazeiro - BA, 51p. 2011.
- DIAS, J. S. et al. Árvores frutíferas do cerrado: importância educacional, econômica, social e cultural. In: MELO, J. O. F. *Ciências Agrárias: O Avanço da Ciência no Brasil*, v. 1, n. 1, p. 17-34, 2021.
- FERREIRA, K. C. et al. Caracterização integral de frutos tamarindo (*Tamarindus indica* L.) do cerrado de Goiás, Brasil e aplicação em produtos drageados. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.
- FONSECA, R. C. et al. Assessment of toxic potential of Cerrado fruit seeds using *Artemia salina* bioassay. *Food Science and Technology*, v. 33, n. 2, p. 251-256, 2013.
- FRAZIER, J. M. (ed.). *In-Vitro Toxicity Testing: Applications to Safety Evaluation*. New York, Marcel Dekker, p. 300, 1992.
- GATTO, L. J. et al. Chemical composition, phytotoxic potential, biological activities and antioxidant properties of *Myrcia hatschbachii* D. Legrand essential oil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 56, e18402, 2020.
- GEROLA, A. P. et al. Estudos quimiométricos da phea formulada em Pluronic®: ação fotodinâmica sobre *Artemia salina*. *Química Nova*, v. 36, p. 97-101, 2013.
- GOHARI, A. R. et al. Bioactive flavonoids from *Satureja atropatana* Bonge. *Natural Product Research*, v. 23, n. 17, p. 1609-1614, 2009.
- HIROTA, B. C. K. et al. Avaliação de toxicidade *in vitro*: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à *Artemia salina*. *Visão Acadêmica*, [S.l.], v. 13, n. 2, 2012.
- HOCAYEN, P. A. S. et al. Avaliação da toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis dracunculifolia* por meio do bioensaio com *Artemia salina*. *INSULA Revista de Botânica*, n. 41, p. 23-31, 2012.
- INSA - Instituto Nacional do Semiárido. *O Semiárido Brasileiro*. Disponível em: <https://www.gov.br/insa/pt-br/semiario-brasileiro>. Acesso em: 04 out 2023.
- JOÃO, R. E. S.; RAGA, A. *Mecanismo de defesa das plantas contra o ataque de insetos sugadores*. Instituto Biológico - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. Documento Técnico 23, p. 1-13, 2016.
- LIBRALATO, G. et al. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. *Ecological Indicators*, v. 69, p. 35–49, 2016.
- LIMA, J. M. et al. Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. *Planta Daninha*, v. 27, p. 7-11, 2009.

- LOPEZ-ANGULO, G. et al. Adaptogenic, immunomodulatory, and antioxidant activities of three *Echeveria* species (Crassulaceae). *South African Journal of Botany*, v. 151, p. 255-262, 2022.
- MANFRA, L. et al. Long-term lethal toxicity test with the crustacean *Artemia franciscana*. *Journal of Visualized Experiments*, v. 62, p. 2182–2185, 2012.
- MARIANO, A. P. X. et al. Analysis of the chemical profile of cerrado pear fixed compounds by mass spectrometry with paper spray and volatile ionization by SPME-HS CG-MS. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 9, e949998219, 2020.
- MARINHO, Cristina de Oliveira. Os biomas da região semiárida: aspectos territoriais. 2015. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.
- MIDIO, A.; MARTINS, I. *Toxicologia de alimentos*. 1ed. São Paulo: Varela, 2000.
- MITIĆ, Z. S. et al. Essential Oils of Three Balkan Abies Species: Chemical Profiles, Antimicrobial Activity and Toxicity toward *Artemia salina* and *Drosophila melanogaster*. *Chemistry & Biodiversity*, v. 19, e202200235, 2022.
- MOURA, N. et al. Ensaios toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes *in vivo* e *in vitro*. *Enciclopédia Biosfera*, v. 8, n. 15, p. 1945-1959, 2012.
- MUNTEANU, C; DUMITRAȘCU, M. *Artemia salina*. *Balneo-Research Journal*, v.2, n.4, p. 119-122,2011.
- NOGUEIRA, L. A. et al. The Presence of Flavonoids in Some Products and Fruits of the Genus *Eugenia*: an integrative review. *Frontiers in Food Science and Technology*, v. 2, 899492, 2022.
- NTUNGWE, E. N. et al. *Artemia* species: An Important Tool to Screen General Toxicity Samples. *Current Pharmaceutical Design*, v. 26, p. 2892-2908, 2020.
- OLIVEIRA, J. F. et al. Screening of some Brazilian fungi and bacteria able to decolor a textile effluent and evaluation of effluent toxicity on *Artemia salina*. *Revista Ambiente e Água*, v. 18, e2913, 2023.
- RAHAMOUZ-HAGHIGHI, S.; SHARAFI, A. Antiproliferative assay of suma or Brazilian ginseng (*Hebanthe eriantha*) methanolic extract on HCT116 and 4T1 cancer cell lines, *in vitro* toxicity on *Artemia salina* larvae, and antibacterial activity. *Natural Product Research*, 2023. DOI: 10.1080/14786419.2023.2225688.
- RAGAVENDRAN, C. et al. Eco-friendly approach for ZnO nanoparticles synthesis and evaluation of its possible antimicrobial, larvicidal and photocatalytic applications. *Sustainable Materials and Technologies*, v. 36, e00597, 2023.
- RAMOS, A.L.C.C. et al. An Integrative Approach to the Flavonoid Profile in Some Plants' Parts of the *Annona* Genus. *Plants*, v. 11, 2855, 2022a.
- RAMOS, A.L.C.C. et al. Evaluation of the total phenolic content, antioxidative capacity, and chemical fingerprint of *Annona crassiflora* Mart. Bioaccessible molecules. *Food Research International*, v. 165, 112514, 2023.
- RAMOS, A.L.C.C. et al. Use of pulp, peel, and seed of *Annona crassiflora* Mart. in elaborating extracts for finger print analysis using paper spray mass spectrometry. *Food Research International*, v. 160, 111687, 2022b.
- REDDY, S.; OSBORNE, W. J. Heavy metal determination and aquatic toxicity evaluation of textile dyes and effluents using *Artemia salina*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 25, 101574, 2020.

- REIS, A. F.; SCHMIELE, M. Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 22, e2017150, 2019.
- RODRIGUES, V. G. et al. Evaluation of antimicrobial activity and toxic potential of extracts and triterpenes isolated from *Maytenus imbricata*. *Química Nova*, v. 35, p. 1375-1380, 2012.
- ROESLER, R.; LORENCINI, M.; PASTORE, G. Brazilian cerrado antioxidant sources: cytotoxicity and phototoxicity in vitro. *Food Science and Technology*, v. 30, n. 3, p. 814-821, 2010.
- ROSA, C. S. et al. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, p. 19-26, 2016.
- SANTOS, B. O. et al. Development and Chemical Characterization of Pequi Pericarp Flour (*Caryocar brasiliense* Camb.) and Effect of in vitro Digestibility on the Bioaccessibility of Phenolic Compounds. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 33, n. 9, p. 1058-1068, 2022.
- SANTOS, P. A. et al. Chemical Study, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Oil Seeds of *Spondias tuberosa* (Anacardiaceae). *International Journal of Fruit Science*, v. 19, n. 3, p. 246-257, 2019.
- SEREMET, O. C. et al. Toxicity of plant extracts containing pyrrolizidine alkaloids using alternative invertebrate models. *Molecular Medicine Reports*, v. 17, p. 7757-7763, 2018.
- SILVA, I. C. A. et al. Chemical profile, antioxidant potential and toxicity of *Smilax brasiliensis* Sprengel (Smilacaceae) stems. *Food Research International*, v. 168, 112781, 2023.
- SILVA, L. L. et al. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, p. 700-705, 2010.
- SILVA, M. R. et al. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 30, n. 5, p. 1034-1044, 2019.
- SILVA, M. R. et al. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. *Ciência Rural*, v. 38, n. 6, p. 1790-1793, 2008.
- SILVA, M. R. et al. Determination of chemical profile of *Eugenia dysenterica* ice cream using PS-MS and HS-SPME/GC-MS. *Química Nova*, v. 44, n. 2, p. 129-136, 2021.
- SILVA, R. R. A. et al. Avaliação e caracterização de substâncias potencialmente tóxicas no chá de folha de cagaita pelo bioensaio da *Artemia salina* e por espectrometria de massas com ionização electrospray. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, 1ed.: Editora Poisson, v. 5, p. 74-82, 2019.
- SOARES, L. V. et al. Brazilian Cerrado fruits and their potential use in bakery products. In: LEWIS, H. *Bread: Consumption, cultural significance and health effects*, p. 125-160, 2017.
- SUDENE - Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste. *Delimitação do semiárido - 2021*. 272p, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/sudene/pt-br/centrais-de-conteudo/02semiariadorelatorionv.pdf>. Acesso em: 04 out 2023.
- TOLOUEI, S. E. L. et al. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic evaluation of *Alibertia edulis* (rich.) a. Rich. ex DC: an indigenous species from Brazil. *Drug and Chemical Toxicology*, v. 43, n. 2, p. 200-207, 2020.
- TORRES, A. R. et al. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.4, p.373-380, 2005.

TRAESEL, G. K. et al. Safety Assessment of Oil from Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.): Evaluation of the Potential Genotoxic and Clastogenic Effects. *Journal of Medicinal Food*, v. 20, n. 8, p. 804–811, 2017.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após A "era do teste DL50". *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 3, n. 2, p. 93-98, 2006.

VAN STAPPEN, G. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. In: LAVENS, P; SORGELOOS, P. (eds.). *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper, n. 361, Rome, p.79–106, 1996.

VILAS BOAS, O. M. G. C. *Farmacologia*. Alfenas: 2006.

VIVEKANANDHAN, P. et al. Stability of insecticidal molecule aucubin and their toxicity on *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and *Artemia salina*. *International Journal of Tropical Insect Science*, v. 42, p. 3403–3417, 2022.

WEICHERT, R. F. et al. *Árvores do Cerrado: importância econômica e social na educação ambiental*. Guarujá-SP: Científica Digital, 2023.

XAVIER, V. L. et al. Nutritional and technological potential of Umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) processing by-product flour. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 94, n 1, e20200940, 2022.