

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MECSHIM MARIE CADONÁ

**EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO DE COMPOSTOS DA *Averrhoa carambola* L. E
AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE CITOTÓXICA**

**FRANCISCO BELTRÃO
2019**

MECSHIM MARIE CADONÁ

**EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO DE COMPOSTOS DA *Averrhoa carambola* L. E
AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE CITOTÓXICA**

Trabalho de Conclusão de Curso para aprovação na disciplina de TCC 2, como pré-requisito para a obtenção do grau em Engenharia Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Francisco Beltrão.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elisângela Düsman

Coorientadoras: Prof^a. Dr^a. Irede Angela Lucini Dalmolin e Prof^a. Dr^a. Lilian Tatiani Düsman Tonin

**FRANCISCO BELTRÃO
2019**

FOLHA DE APROVAÇÃO

MECSHIM MARIE CADONÁ

**EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO DE COMPOSTOS DA *Averrhoa carambola* L. E
AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE CITOTÓXICA**

Trabalho de Conclusão de Curso para aprovação na disciplina de TCC2, como pré-requisito para a obtenção do grau em Engenharia Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Francisco Beltrão.

Data de aprovação: 03 de julho de 2019.

Prof.^a Dr.^a Elisângela Düsman
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Francisco Beltrão

Prof.^a Dr.^a Irede Angela Lucini Dalmolin
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Francisco Beltrão

Prof.^o Dr.^o Cláudio Roberto Novello
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Francisco Beltrão

A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação do curso.

“Dedico à memória de meu pai e minha vó,
por todo o amor incondicional.”

AGRADECIMENTOS

Quero começar por agradecer a Deus, pois foi ele que levantou minha cabeça e me deu força para não desistir nos momentos mais difíceis. A fé que tenho em ti alimentou meu foco, minha força e minha disciplina.

Gostaria de agradecer minha família, especialmente minha mãe Marinês que batalhou muito para me oferecer uma educação de qualidade e me ensinou todos os valores importantes que levarei comigo para o resto de minha vida. Ao meu pai Clécio (em memória), que ofertou todas as condições necessárias para que eu pudesse concluir o curso que sempre almejei. Saiba que sem você, nada disso seria possível. Obrigada também ao meu padrasto Paulo, que soube me incentivar nos momentos mais difíceis e não poupou esforços para me ver formada. Sou imensamente grata a minha avó Lurdes, que sempre acreditou no meu potencial e eternamente irá cuidar para que meus sonhos sejam realizados lá de cima, no céu. As minhas irmãs de coração, Tayla e Vanessa, agradeço imensamente pela torcida, conselhos, palavras de apoio, puxões de orelha e risadas.

Não posso deixar de agradecer em especial a minha orientadora Elisângela, que não poupou esforços, tempo e ajuda para a realização deste trabalho. Também, a minha coorientadora Irede, por abraçar a causa deste projeto e me fornecer todos os conhecimentos de engenharia necessários para isso. Vocês são exemplos da profissional que quero me tornar!

Por fim, a todas as pessoas que de alguma forma fizeram parte do meu percurso eu agradeço com todo meu coração.

Que venha o futuro!

RESUMO

A carambola é classificada principalmente como doce ou ácida, de acordo com a concentração de ácido oxálico presente na polpa. O fruto dispõe de uma grande lista de nutrientes essenciais e vitaminas. Há estudos que relatam que a neurotoxicidade ocorre devido as altas concentrações de ácido oxálico na carambola em conjunto com a toxina caramboxina, que pode ser tóxica para a saúde de pacientes com problemas renais, pois estes não conseguem eliminar esta neurotoxina do organismo. Assim, o presente projeto teve por objetivo a extração sólido-líquido de compostos da fruta, com maturação verde e madura, sua caracterização físico-química, e análise de citotoxicidade e mutagenicidade, em células meristemáticas de *Allium cepa* L. e células de hepatoma de *Rattus norvegicus* (HTC), visando obter maiores conhecimentos sobre os efeitos celulares desta fruta. As raízes de *A. cepa*, tratadas com as concentrações de 5 µg/mL; 500 µg/mL e 1000 µg/mL dos extratos etanólicos de carambola, nos dois tipos de maturação, apresentaram citotoxicidade pela diminuição dos índices mitóticos em todos os tratamentos empregados. Somente a concentração de 5 µg/mL de extrato etanólico bruto de carambola madura aumentou as divisões celulares, porém, este foi o único tratamento que apontou mutagenicidade. No tempo de 24 horas do teste de citotoxicidade com as células tumorais hepáticas (HTC), o extrato etanólico bruto de carambola madura, nas concentrações de 200 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL, apresentou efeito indutor da proliferação celular. No tempo de 48 horas, todas as concentrações do extrato etanólico bruto de carambola madura induziram a divisão celular tumoral, assim como as concentrações de 10 µg/mL e 500 µg/mL do extrato de carambola verde. No tempo de 72 horas a indução a divisão celular cessou e, ambos os extratos, apresentaram absorvâncias médias semelhantes às do controle negativo. Assim, os dados do presente estudo mostram que, apesar do elevado rendimento de extração (carambola verde: 12,57%, carambola madura: 10,62%) da presença de antioxidantes nos extratos produzidos (carambola verde: 93,25%, carambola madura: 92,55% de inibição do DPPH em 30 minutos), outros solventes devem ser avaliados com a fruta carambola, a fim de obter extratos mais eficientes em termos biológicos.

Palavras-chave: Carambola. Citotoxicidade. Etanol. Mutagenicidade.

ABSTRACT

The carambola is classified mainly as sweet or acidic, according to the concentration of oxalic acid present in the pulp. The fruit has a large list of essential nutrients and vitamins. There are studies that report that neurotoxicity occurs due to the high concentrations of oxalic acid in the carambola in conjunction with the caramboxin toxin, which may be toxic to the health of patients with kidney problems because they can not eliminate this neurotoxin from the body. Thus, the present project aimed at the solid-liquid extraction of fruit compounds, with green and mature maturation, their physico-chemical characterization, and cytotoxicity and mutagenicity analysis in meristematic cells of *Allium cepa* L. and hepatoma cells of *Rattus norvegicus* (HTC), aiming to obtain more knowledge about the cellular effects of this fruit. The roots of *A. cepa*, treated with concentrations of 5 µg / mL; 500 µg / mL and 1000 µg / mL of carambola ethanolic extracts, in both types of maturation, presented cytotoxicity due to the reduction of mitotic indices in all the treatments used. Only the concentration of 5 µg / mL crude ethanolic extract of mature carambola increased cell division, but this was the only treatment that indicated mutagenicity. In the 24 hours time of the cytotoxicity test with the hepatic tumor cells (HTC), the crude ethanolic extract of mature carambola, at concentrations of 200 µg / mL, 500 µg / mL and 1000 µg / mL, presented cell proliferation inducing effect. At 48 hours, all concentrations of crude ethanolic extract of mature carambola induced tumor cell division, as well as concentrations of 10 µg / mL and 500 µg / mL of the green carambola extract. At 72 hours the induction of cell division ceased and both extracts presented mean absorbances similar to those of the negative control. Thus, the data of the present study show that, despite the high extraction yield (green carambola: 12.57%, mature carambola: 10.62%) of the presence of antioxidants in the extracts produced (green carambola: 93.25%, carambola mature: 92.55% inhibition of DPPH in 30 minutes), other solvents should be evaluated with the carambola fruit in order to obtain extracts that are more biologically efficient.

Keywords: Carambola. Cytotoxicity. Ethanol. Mutagenicity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química da caramboxina	18
Figura 2 – Mofo apresentado no processo de secagem das carambolas.	30
Figura 3 – Extração das carambolas verdes e maduras e sua elevada quantidade de material particulado.	30
Figura 4 - Percentuais médios dos índices mitóticos (IM%) obtidos para os controles negativo (CO-) e positivo (CO+), e os grupos tratados com as diferentes concentrações do extrato etanólico bruto de carambola madura (EM) e carambola verde (EV).	32
Figura 5 – Mutações encontradas nas células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> L. tratadas com 5µg/mL de extrato etanólico bruto de carambola madura.	35
Figura 6 - Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato tratadas por 24 horas, com as concentrações do extrato etanólico bruto de carambola verde e madura.	36
Figura 7 - Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato tratadas por 48 horas, com as concentrações do extrato etanólico bruto de carambola verde e madura.	37
Figura 8 - Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato tratadas por 72 horas, com as concentrações do extrato etanólico bruto de carambola verde e madura.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados físico-químicos médios e desvio-padrão dos sucos de 27 carambola verde (CV) e madura (CM).

Tabela 2 – Resultado da Atividade Antioxidante com os diferentes extratos de 28 carambola madura e verde através do tempo, pelo método de sequestro de radicais livres DPPH.

Tabela 3 – Rendimento total e máximo dos extratos etanólico e aquoso em 31 diferentes níveis de maturação.

Tabela 4 – Tipos, números, total de alterações e índice mutagênicos (%) 34 obtidos para os grupos controle negativo (CO-) e positivo (CO+) e os grupos tratados com as diferentes concentrações extrato etanólico bruto de carambola madura (EM) e verde (EV), nos tempos 0, 24 e 48 horas, em células de raiz de *Allium cepa* L.

Tabela 5 - Percentual de viabilidade de células (VC) tumorais de fígado de rato, 38 tratadas com os extratos etanólicos de carambola madura (EM) e verde (EV), por 24, 48 e 72 horas, pelo teste do MTT.

Tabela 6 - Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células 47 em diferentes fases do ciclo celular, obtidos os grupos controle positivo (CO+) e negativo (CO-) e os grupos tratados com os extratos etanólico de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *Allium cepa* L., tempo 0h (Co-0h).

Tabela 7 - Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células 49 em diferentes fases do ciclo celular, obtidos os grupos controle positivo (CO+) e negativo (CO-) e os grupos tratados com os extratos etanólico de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *Allium cepa* L., tempo 24h (Tr-24h).

Tabela 8 - Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células 51 em diferentes fases do ciclo celular, obtidos os grupos controle positivo (CO+) e negativo (CO-) e os grupos tratados com os extrato etanólico bruto de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *Allium cepa* L., tempo 48h (Tr-48h).

Tabela 9 – Tipos, números, total de alterações e percentual de índice de 53 mutagenicidade (IMG%) obtidos grupos controle positivo (CO+) e negativo (CO-) e os grupos tratados os extratos etanólico de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *Allium cepa* L., tempo 0h (Co-0h).

Tabela 10 – Tipos, números, total de alterações e percentual de índice de 55 mutagenicidade (IMG%) obtidos grupos controle positivo (CO+) e negativo (CO-) e os grupos tratados com os extratos etanólico de carambola madura (CM) e verde (CV), em células de raiz de *Allium cepa* L., tempo 24h (Tr-24h).

Tabela 11 – Tipos, números, total de alterações e percentual de índice de 57 mutagenicidade (IMG%) obtidos grupos controle positivo (CO+) e negativo (CO-) e os grupos tratados os extratos etanólico de carambola madura e verde, em células de raiz de *Allium cepa* L., tempo 48h (Tr-48h).

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1	SEGURANÇA ALIMENTAR E ALIMENTOS FUNCIONAIS	14
3.2	ATIVIDADE ANTITUMORAL	15
3.3	CARAMBOLA	16
3.4	EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS DE VEGETAIS	19
3.4.1	Extração Sólido-Líquido	20
3.5	TESTES BIOLÓGICOS	21
3.5.1	Citotoxicidade e Mutagenicidade	21
3.5.2	Ensaio de Atividade Antitumoral	21
4	METODOLOGIA	23
4.1	SOLUÇÃO TRATAMENTO	23
4.2	PREPARO DOS EXTRATOS	23
4.3	ROTA EVAPORAÇÃO	23
4.4	RENDIMENTO	23
4.5	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	24
4.6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	24
4.7	TESTE DE CITOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE COM <i>A. cepa</i>	25
4.8	TESTE DE CITOTOXICIDADE/ATIVIDADE ANTITUMORAL (HTC)	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	27
5.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	28
5.3	PRODUÇÃO DOS EXTRATOS	29
5.4	TESTE DE CITOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE COM <i>A. cepa</i>	31
5.5	TESTE DE CITOTOXICIDADE/ATIVIDADE ANTITUMORAL (HTC)	35
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXO	47

1 INTRODUÇÃO

Com base na Declaração dos Direitos Universais Humanos de 1948, a população deve ter garantia de que sua segurança alimentar seja assegurada (CORRÊA et al., 2003). Deste modo, dentre as avaliações de segurança alimentar, deve-se incluir estudos de risco de consumo alimentar de substâncias que possam causar efeitos permanentes e hereditários ao ácido desoxirribonucleico (DNA), avaliação de mutagenicidade, ou efeitos nos ciclos de divisão celular, estudos de citotoxicidade e, até mesmo, avaliações de efeitos coadjuvantes benéficos à saúde humana, como atividade antitumoral (PANELLI-MARTINS, 2007).

Nas últimas décadas, pesquisas estão sendo voltadas à utilização de plantas medicinais, seus extratos ou seus compostos isolados para a obtenção de quimioterápicos mais eficazes e seletivos no tratamento de cânceres (SILVA, 2008), sem efeitos adversos às células normais e com mínimos efeitos indesejados. Neste caso, grande parte destas plantas são selecionadas por suas capacidades de controle da proliferação celular das células tumorais, o que diminuiria as divisões celulares dessas e causaria sua eliminação/cura (COSTA-LOTUFO, 2010).

Para testar a segurança alimentar de substâncias e o potencial de ação antitumoral, são realizados principalmente testes *in vivo* e *in vitro* (SIMONETTI, 2004). Dentre estes testes, destacam-se os ensaios com as células meristemáticas de *Allium cepa* L. e as células de hepatoma de *Rattus norvegicus* (HTC). No teste com *A. cepa* pode-se monitorar e analisar a genotoxicidade, através das raízes da cebola que ficam em contato direto com diferentes concentrações de extrato (MAZZEO, 2009). Já no teste de atividade antitumoral com a cultura de células HTC, estas células verificam a influência das substâncias tóxicas pela metabolização de compostos químicos estranhos ao organismo (MANTUANELLI, 2015).

A extração é uma operação físico-química muito utilizada para isolar compostos a serem aplicados em testes, em especial de atividade citotóxica, antitumoral ou quimioterápica, visto que há a transferência de massa do composto desejado para a solução com a qual tem mais afinidade (FERREIRA, 2013). No caso de plantas e frutos, a principal forma de extração é a sólido-líquido, onde os princípios ativos solúveis do material sólido são extraídos por um solvente líquido que é seletivo a eles (VEGGI, 2009). A utilização do etanol como solvente apresenta

algumas vantagens quando comparado a solventes orgânicos tóxicos, visto se tratar de fonte renovável, biodegradável e não tóxico.

A carambola é um fruto rico em antioxidantes, que são capazes de sequestrar radicais livres danosos às células, o que pode poderia retardar o processo de envelhecimento celular. A fruta também é rica em vitamina C, que é um antioxidante muito indicado por ser considerado um dos mais poderosos de sua classe (FRAGOSO, 2013). Segundo estudos, os antioxidantes têm efeito indutor da apoptose e inibidor de crescimento tumoral em diferentes estágios de maturação da fruta (CARVALHO, LOCATELLI, 2009).

Baseado nisso, o objetivo do presente estudo foi produzir extratos etanólicos de frutos de carambola verdes e maduras e avaliar a capacidade citotóxica, mutagênica e antitumoral destes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter extratos etanólicos do fruto carambola nos estágios verde e maduro pelo processo de extração sólido-líquido, para avaliação citotóxica, mutagênica e antitumoral dos mesmos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar a técnica de extração sólido-líquido nos frutos de carambola verde e madura para a obtenção de extratos etanólicos brutos;
- Caracterizar e diferenciar os frutos e os extratos de carambola verde e madura em termos físico-químicos;
 - Recuperar o solvente por meio de rotaevaporação;
 - Obter o rendimento das extrações;
 - Avaliar e comparar a atividade citotóxica e mutagênica dos extratos de carambola, provindos de frutos verdes e maduros, em células meristemáticas de *A. cepa*, *in vivo*;
 - Avaliar e comparar a atividade antitumoral dos extratos de carambola, provindos de fruto verdes e maduros, em cultura de células HTC, *in vitro*;
 - Avaliar a eficiência de diferentes concentrações dos extratos da carambola e tempos de exposição.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 SEGURANÇA ALIMENTAR E ALIMENTOS FUNCIONAIS

Desde a Declaração dos Direitos Universais Humanos de 1948, observa-se que a garantia de um padrão de vida satisfatório vem sendo defendido com a ajuda da segurança alimentar (FEIFEI et al., 2017).

Dentre os testes que podem ser utilizados para a avaliação da segurança alimentar, destacam-se os de genotoxicidade. Estes visam avaliar os riscos que o consumo de substâncias alimentícias pode causar ao DNA humano e, conseqüentemente, podem contribuir para o desenvolvimento de diversos tipos de cânceres (GLINSKIY et al., 2018).

Segundo pesquisas, o aumento de casos de câncer tem relação com mudanças nos moldes de reprodutividade, nutrição e fatores hormonais da população. Logo, uma avaliação da segurança alimentar poderia, a longo prazo, prevenir ou diminuir o índice desta doença (BORATYŃSKA; HUSEYNOV, 2017).

Por outro lado, os alimentos funcionais oferecem, além das funções nutricionais básicas, efeitos metabólicos e fisiológicos benéficos à saúde (SOARES et al., 2015). Alguns frutos possuem compostos bioativos que apresentam capacidades antioxidantes que variam de acordo com seus teores de vitamina C, carotenóides, flavonoides, entre outros compostos fenólicos (REIS et al., 2015).

Estudos recentes mostram que compostos bioativos presentes em alimentos podem atuar diretamente no estresse oxidativo das células e na expressão de fatores de transcrição atuantes na resposta anti-inflamatória. Assim, esses fatores são fundamentais tanto para mostrar os fatores benéficos presentes nos alimentos *in natura*, bem como a importância do uso dessa via em patologias recorrentes e de tratamentos que envolvem várias questões medicamentosas e comportamentais, o que garante contribuição para novas terapias nutricionais (SOARES et al., 2015).

Sendo assim, alimentos bioativos fornecem nutrientes que podem contribuir para o melhoramento das funções como para a prevenção de doenças, e a ajuda intermediária no tratamento delas (LOPEZ, 2015).

3.2 ATIVIDADE ANTITUMORAL

Grandes avanços estão sendo desenvolvidos a fim de identificar compostos químicos mais eficazes e seguros para o tratamento do câncer, com classes de agentes antitumorais das mais diversas estruturas químicas (XUE-DONG, 2016).

Os agentes citotóxicos clássicos para o tratamento de tumores apresentam várias limitações, dentre elas, a terapia estreita, que muitas vezes não permite administrar quantidades suficientes da droga, a fim de reduzir o crescimento da célula defeituosa, e a resposta quimioterápica variada entre os pacientes (ALMEIDA, 2010).

Nos últimos tempos, estreitou-se o estudo das plantas medicinais a fim de identificar compostos ou metabólicos secundários que possam contribuir em aplicações de medicamentos, cosméticos, entre outros. Conforme Silva (2008), metade das drogas de testes clínicos foram isoladas de fontes naturais. Ainda, produtos naturais com grandes quantidades de flavonoides, alcaloides e terpenos têm recebido atenção deste tipo de pesquisa, devido a suas propriedades citotóxicas, antioxidantes e quimioprolifáticas de combate ao câncer. A importância do estudo das plantas na atividade antitumoral está ligada a sua contribuição com componentes que podem ser utilizados diretamente na terapêutica ou ainda compor matéria-prima para manipulação, bem como o emprego na indústria para obtenção de princípios ativos e precursores de sínteses para essa classe de fármacos (SILVA, 2008). Os flavonoides, por exemplo, que estão presentes em várias plantas, são conhecidos por seus efeitos antioxidantes inibidores da atividade de crescimento tumoral e indutores de apoptose, em várias linhagens de células tumorais (CARVALHO; LOCATELLI, 2009).

Grande parte dos quimioterápicos usados é selecionada por suas capacidades de controle da proliferação celular. Todavia, atualmente, há estudos de fármacos com atividades específicas para algum mecanismo metabólico das células do tumor. Também há pesquisas de fármacos que inibam a neovascularização tumoral e induzem a célula à redefinição celular ou à apoptose (COSTA-LOTUFO, 2010). De acordo com Simonetti (2004), quase todos os fármacos utilizados no tratamento de tumores atualmente agem sobre o DNA, danificando o mesmo ou inibindo sua replicação. A maioria dos citostáticos utilizados no tratamento antineoplásico atua intercalando no DNA, afetando a divisão mitótica ou inibindo

diretamente o crescimento celular, e isso se deve basicamente à alta toxicidade destes compostos (LIMA, 2014). Além disso, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para a produção de drogas capazes de inibir as proteinases, que são úteis para a manutenção das células do tumor.

Assim, atualmente tem crescido o interesse e estudo de novos medicamentos antitumorais que possuam menos efeitos danosos às células não afetadas do indivíduo (SILVA, 2008). Então, a elaboração e uso adequado das plantas medicinais como antitumorais necessitam de maiores investigações de seus efeitos fisiológicos, mutagênicos, citotóxicos e genotóxicos no organismo humano (SILVA, 2008).

3.3 CARAMBOLA

A carambola é um fruto exótico proveniente da caramboleira (*Averrhoa carambola* L.), uma árvore ornamental de pequeno porte, da família das Oxalidaceae, nativa da Indonésia e da Índia (POMMER et al., 2006).

Esta fruteira foi introduzida no Brasil no início do século XVIII, sendo atualmente cultivada em todo o país em pequenos pomares, fundos de quintais e sítios, com destaque para o estado de São Paulo, que apresenta maior cultivo. A planta se desenvolve preferencialmente em áreas quentes e úmidas (BASTOS, 2004).

A principal característica deste fruto se dá pelo formato de uma estrela de cinco pontas quando cortada transversalmente (DONADIO et al., 2001). Possui de 6 a 15 cm de comprimento e cinco gomos longitudinais, que correspondem aos carpelos, além de ter pesos que variam entre 70 a 130 g (TORRES et al., 2003). O fruto é consumido tanto como fruta fresca como em geleias, compotas e molhos (TORRES et al., 2003).

A carambola contém uma enorme lista de nutrientes essenciais e vitaminas que são importantes a saúde e que fazem bem ao organismo. Por ter alto teor de água, cerca de 90%, o fruto da carambola ajuda a hidratar o organismo e manter os níveis de sais minerais estáveis. Possui muitos minerais e eletrólitos, como o ferro, potássio, fósforo, cálcio, magnésio e zinco que mantêm um bom funcionamento do organismo (MORTON, 1987). Além disso, devido ao fato de a casca e a polpa serem ricas em fibras dietéticas solúveis, melhoram a digestão e impedem a absorção do

colesterol ruim (LDL) pelo intestino (CORRÊA, 1962). E outros estudos mostraram que a carambola possui propriedades antieméticas, antidiarréicas, antiinflamatórias, antitussígenas, antipiréticas (ATJANASUPPAT et al., 2009), antiviral (GONÇALVES et al., 2005) e hepatoprotetora (AZEEM et al., 2010).

Vale destacar que o fruto é rico em antioxidantes, com destaque aos fenólicos e carotenoides, que possuem a capacidade de eliminar radicais livres danosos às células, o que pode retardar o processo de envelhecimento celular. A fruta também é rica em vitamina C, que é tida como um dos antioxidantes mais poderosos, deixando o organismo resistente contra a ação de agentes que causam infecções, pois estimula o sistema imunológico. Para cada 100 g desta fruta, há o fornecimento de 35,7 mg de vitamina C, cerca de 57% da necessidade diária do organismo humano (FRAGOSO, 2013).

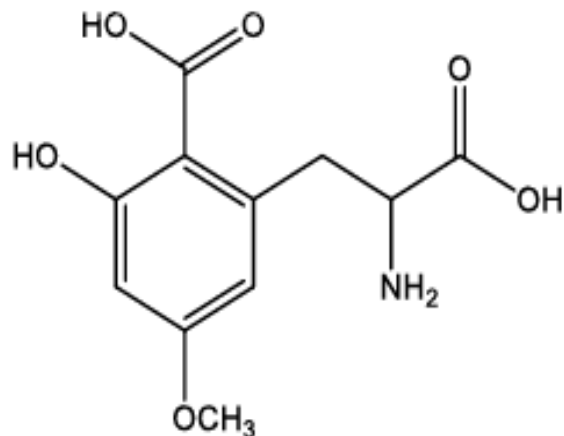
O fruto também possui baixa caloria (aproximadamente 31 cal em 100g), podendo ser amplamente utilizada em dietas restritivas. Há principalmente dois tipos de frutas, as mais azedas ou verdes, que contêm um valor maior de ácido oxálico e as mais doces, com conteúdo menor (FRAGOSO, 2013). Todavia, uma pesquisa feita por cientistas da Universidade de São Paulo (USP) em Ribeirão Preto – SP constatou que a fruta apresenta moléculas de ácido oxálico, que atua como um antinutriente, reagindo com os íons ferro e cálcio para o mau funcionamento de nosso organismo, devido ao oxalato apresentar efeito obstrutivo pela formação de cristais de oxalato de cálcio, e indução de apoptose de células epiteliais renais. (OLIVEIRA; AGUIAR, 2015). Ainda, o ácido oxálico é verdadeiramente um ácido que é tóxico e pode matar em concentrações em torno de 1500 mg/kg (OLIVEIRA et al., 2016).

Com o avanço das pesquisas acerca os efeitos tóxicos provocados pela fruta pela (USP), foi descoberta uma toxina que seria a responsável pelos efeitos neurotóxicos provocados pela carambola. Nesse estudo, a neurotoxina presente na fruta foi isolada e observou-se que ela atua especificamente inibindo o sistema GABAérgico. Os pesquisadores notaram que essa molécula difere do oxalato, e a denominaram por caramboxina (OLIVEIRA; AGUIAR, 2015).

A caramboxina, que possui estrutura química apresentada na Figura 1, mesmo presente em pequenas quantidades no fruto, é tóxica principalmente para pessoas que sofrem de problemas renais. Isto se deve ao fato que pacientes com o sistema renal debilitado não conseguem eliminar a mesma, que atinge alta

concentração na corrente sanguínea e, conseqüentemente, o sistema nervoso central (SNC), onde tem poder excitatório, convulsivante e neurodegenerativo, podendo gerar náuseas e em casos mais graves, convulsões e até mesmo a morte (GARCIA-CAIRASCO, 2013). Além disso, a caramboxina atua sobre os principais receptores glutamatérgicos envolvidos no mecanismo da excitotoxicidade neuronal, sendo capaz de ativá-los (OLIVEIRA; AGUIAR, 2015).

Figura 1 – Estrutura química da Caramboxina.



Fonte: GARCIA-CAIRASCO et al. (2013).

Logo, a neurotoxicidade não está relacionada exclusivamente ao alto teor de ácido oxálico presente na fruta, mas também a caramboxina, pois estes dois grupos agem no aparecimento de lesões renais agudas (OLIVEIRA; AGUIAR, 2015).

Para a segurança da população, há projetos de lei no Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul e São Paulo que determinam a fixação de cartazes nos estabelecimentos comerciais que trabalham com a carambola, visando alertar as pessoas que o fruto pode trazer complicações para pacientes com problemas renais (PROJETO DE LEI Nº 1641/2015, 2015).

De acordo com Novais (2015), para as demais pessoas saudáveis, a caramboxina é facilmente eliminada pelo organismo, e a quantidade recomendada de carambola é uma unidade do fruto maduro por dia. Se ingerida em excesso, pode acarretar futuros problemas renais. A quantidade do fruto que pode ser ingerida varia de acordo com a pessoa, todavia, não foi realizado nenhum estudo sobre a dose limite.

3.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS DE VEGETAIS

A extração é uma operação físico-química de transferência de massa que se baseia na separação de um ou mais componentes (solutos) de uma mistura. Essa separação é feita com a adição de outro composto, o solvente, para que o soluto seja transferido de uma fase para outra, com a qual tem mais afinidade. De acordo com Ferreira (2013), existem três principais tipos de extração: as que envolvem uso de solvente, com vapor e com fluidos supercríticos.

Nos processos industriais, geralmente na fase de preparação da matéria-prima, ocorre a aplicação de alguma técnica de extração para, assim, isolar o material a ser aplicado no processo. Para que haja uma extração que realmente obtenha o material desejado, é necessário avaliar os métodos extrativos que levam em conta a seletividade e eficiência da extração desejada, pois a matriz vegetal é muito complexa (VEGGI, 2009).

O uso de solventes verdes como o etanol, pode substituir compostos derivados do petróleo e com efeitos tóxicos, como hexano e o metanol. Essa substituição acontece com potencial de afinidade, visto que a parte hidroxila do etanol tem polaridade baixa, sendo seletiva como solvente principalmente na cadeia carbônica apolar (TOMAZIN JUNIOR, 2008).

O rendimento da extração dos compostos desejados da planta é principalmente influenciado pelas condições em que o processo acontece. Assim, são de fundamental importância a escolha certa do solvente, o controle da temperatura de extração, agitação e pressão favoráveis ao processo. Além disso, a extração tem relação com a estrutura molecular da matéria-prima, que assegura a cada sistema soluto-solvente um comportamento peculiar (VEGGI, 2009).

Nos últimos tempos, os processos de extração ficaram mais rígidos, principalmente devido às determinações ambientais, normas da saúde pública e a precisão de minimização de custos energéticos, além de uma legislação muito rígida para a presença de resíduos potencialmente tóxicos nos produtos alimentícios (VEGGI, 2009).

Um importante procedimento posterior à extração é a recuperação do solvente utilizado. Este processo, no caso de ensaios com células *in vivo*, visa purificar o extrato de contaminantes de solvente que possam desviar resultados dos testes subsequentes (SANSEVERINO, 1999). Também, a recuperação do solvente

gera economia de reagentes, que muitas vezes são extremamente caros, além de que, sua reutilização incentiva a postura ética ambiental do Engenheiro Químico, que se utiliza da Química Verde para contribuição da diminuição da problemática ambiental (LEAL; MARQUES, 2008).

A maioria das recuperações se dá por evaporação do solvente quando, após a extração, o extrato não tem princípios ativos termossensíveis. Já quando o extrato é aquoso e o aumento da temperatura causa degradação aos compostos presentes no extrato, pode-se utilizar a técnica de liofilização, que conserva as propriedades nutritivas do produto, pois as membranas das células não se rompem com a perda do vapor de água (GARCIA, 2009).

3.4.1 Extração Sólido-Líquido

A extração sólido-líquido com auxílio de solvente se dá quando os compostos solúveis do material sólido são extraídos por um solvente líquido que é seletivo a ele. Nesse processo, o solvente penetra nos capilares do composto estudado e dissolve o mesmo, produzindo uma solução de alta concentração. Pela difusão, ocorre uma mudança da concentração entre a solução do material extraído e a solução que cerca as partículas (SAWADA, 2012).

Há algumas técnicas básicas que podem ser adotadas para aumentar a transferência de massa e o rendimento das extrações sólido-líquido. Por exemplo, a moagem da matéria-prima, para que seja aumentada a área de contato entre o solvente e a matriz. Ainda, para extração dos compostos pretendidos, deve-se levar em conta a seletividade do solvente, que se baseia também na tensão interfacial, viscosidade, estabilidade, reatividade, toxicidade e custos. Altas temperaturas também são atrativas ao processo, pois promovem o aumento da solubilidade do soluto no solvente, o que aumenta sua taxa de difusão e transferência de massa. Porém, deve-se levar em conta que muitas matérias-primas são termicamente sensíveis e se degradam quando usadas temperaturas fora das normais. Também, a umidade do material sólido deve ser estudada, pois a água pode competir com o solvente para a dissolução do soluto, afetando assim o processo de transferência de massa (FERREIRA, 2013).

3.5 TESTES BIOLÓGICOS

3.5.1 Citotoxicidade e Mutagenicidade

Citotoxicidade é a capacidade particular de um material em favorecer alterações metabólicas nas células, podendo culminar ou não na morte das mesmas. A liberação de substâncias nocivas pelo material pode danificar as células ou restringir o crescimento celular da cultura (ROGEROA et al., 2003). Sistemas de testes como o *A. cepa* têm sido amplamente utilizados para estudos dos efeitos de extratos de hortaliças e frutos visando à detecção de agentes tóxicos, além do controle da poluição ambiental e avaliação do potencial mutagênico de alguns compostos químicos (FISKESJÖ, 1985).

Os sistemas de testes vegetais na avaliação da genotoxicidade e citotoxicidade são de grande importância, pois apesar da diferença entre os metabolismos de plantas e animais, existem também semelhanças, ressaltando que quando uma planta sofre ação mutagênica, os seres humanos que a consomem também podem ser afetados (BAGATINI et al., 2007).

A mutagenicidade é definida como mudança, alteração gênica, inibição ou dano do mecanismo de reparação do DNA, o que resulta em uma célula alterada. A mutagenicidade se dá pela propriedade de um agente ou substância em aumentar ou induzir a frequência de mutação nas células de um organismo (BORGES-OSÓRIO, 2013). O teste com *A. cepa* também é bem aceito para o estudo da mutagenicidade, pois as raízes ficam em contato direto com a substância a ser testada, permitindo, assim, que se faça avaliações de substâncias com concentrações diferentes (VICENTINI et al., 2001).

3.5.2 Ensaio de Atividade Antitumoral

As células HTC (*Hepatoma tissue culture*) são células cancerosas de origem hepática, da espécie *Rattus norvegicus*, e são amplamente utilizadas em experimentos de atividade antitumoral, visto que o fígado é o principal sítio de metabolização de compostos químicos estranhos ao organismo (MAZZEO, 2009). As células HTC expressam principalmente enzimas metabolizadoras de fármacos de fase I e II, para assim avaliar os efeitos dessas drogas nos organismos. Como

apresentam alta atividade metabólica, verificam a influência da substância estudada na metabolização pelo fígado (MANTUANELLI, 2015).

A cultura de células apresenta grande vantagem sobre os testes *in vivo* pela possibilidade de limite das variáveis experimentais, assim possibilitando a obtenção de dados significativos facilmente e por períodos de teste mais curtos. Ainda, resultados satisfatórios podem ser obtidos com pouca quantidade de células, pois padronizam bem os efeitos causados, com o efeito esperado no homem (MAZZEO, 2009).

4 METODOLOGIA

4.1 SOLUÇÃO TRATAMENTO

As carambolas, verdes e maduras, foram adquiridas em frutarias na cidade de Francisco Beltrão, da marca Sítio ShimaZaki. Elas foram higienizadas e congeladas em porções em freezer doméstico até o momento do seu uso.

4.2 PREPARO DOS EXTRATOS

Para o preparo dos extratos brutos foram adicionadas 100 g da polpa *in natura* de carambola verde ou madura (turborizadas) em 500 mL do solvente extrator (etanol 99,8% (CH₃CH₂OH)). Então, estes foram mantidos em agitação magnética por 2 horas ao abrigo de luz à temperatura ambiente (PALIOTO et al., 2015). Após, os extratos foram filtrados a vácuo utilizando gaze como filtro e diluídos em um balão volumétrico de 1000 mL, com o solvente, para se obter extratos na concentração final de 0,1 g mL⁻¹.

4.3 ROTA-EVAPORAÇÃO

O solvente etanol foi recuperado através da separação dos extratos por rotaevaporação pelo equipamento Rotaevaporador FISATOM. Este procedimento foi realizado em temperatura máxima de 40 °C, para que não ocorresse a degradação dos agentes nutracênticos dos extratos. Para a temperatura de rotaevaporação escolhida considerou-se uma temperatura máxima atingida pela fruta quando ainda presa à árvore e também para facilitar a remoção do solvente. A rotaevaporação aconteceu até a retirada máxima do solvente e, logo após, o extrato foi colocado por 12 horas em estufa de circulação de ar para a evaporação de resquícios do mesmo.

4.4 RENDIMENTO

O rendimento máximo da extração foi determinado em aparelho de extração projetado por Franz von Soxhlet (SOXHLET, 1879). Os cartuchos foram recheados com 5 g de carambola verde ou madura picados em pequenos pedaços e foram

dispostos no equipamento de extração Soxhlet em contato com o solvente etanol. O equipamento foi ajustado para atingir a temperatura de ebulição do solvente (78,5 °C) e foi operado por 8h ininterruptas. Por fim, o solvente foi evaporado e os balões que continham os extratos finais foram colocados em dessecador até esfriamento. O cálculo do rendimento é feito a partir da massa de extrato livre de solvente obtida em relação à massa inicial da carambola submetida à extração, conforme Equação 1.

$$\text{Rendimento máximo} = \frac{\text{massa final do extrato}}{\text{massa inicial da amostra}} * 100\% \quad (1)$$

Os resultados das médias dos rendimentos foram comparados pelo teste de T não-pareado ($\alpha=0,05$; $n=3$), pelo programa *GraphPad Instat*.

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas dos frutos de carambola verde e madura foram realizadas seguindo as técnicas preconizadas no manual de Métodos Físico-químicos para análises de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (2008), determinando: pH, acidez molar, umidade, cinzas e sólidos solúveis.

4.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para determinação da atividade antioxidante foi utilizado o método do sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), que consiste na alteração da coloração violeta-escura característica do composto, conferida pelo radical de nitrogênio, com absorção entre 515-520 nm., conforme Brand-Williams (1995).

A determinação da atividade antioxidante foi feita através da porcentagem de inibição (%I) em relação ao controle, conforme a Equação 2, onde (Ac) representa a absorbância do controle, (Aa) representa a absorbância da amostra, (Ab) absorbância do branco.

$$\%I = \frac{Ac - (Aa - Ab)}{Ac} * 100 \quad (2)$$

A análise estatística foi realizada pelo teste de variância ANOVA, seguida pelo Teste de Tukey ($\alpha=0,05$; $n=4$), para fins de comparação das quadruplicatas realizadas.

4.7 TESTE DE CITOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE COM *A. cepa*

A citotoxicidade e mutagenicidade dos extratos foram avaliadas utilizando como sistema-teste as células meristemáticas de raiz de *A. cepa* (cebola), preparadas pela reação de Feulgen e coradas com o reativo de Schiff (FISKESJÖ, 1985).

Antes de cada tratamento, duas raízes de cada cebola (previamente enraizadas em água filtrada) foram coletadas e fixadas em uma solução de 3 mL de metanol e 1 mL ácido acético, para servirem de controle do próprio bulbo (0h). Em seguida, as raízes destes bulbos foram colocadas para crescer em contato com os extratos da carambola verde (EV) e madura (EM), diluídos em água nas concentrações de 5 $\mu\text{g/mL}$ (A); 500 $\mu\text{g/mL}$ (B) e 1000 $\mu\text{g/mL}$ (C), por 24 horas. Após o tempo de tratamento, foram retiradas duas raízes de cada cebola e fixadas (24h)). Após, as raízes restantes nos bulbos foram lavadas levemente, para retirar os resíduos dos extratos, e colocados por mais 24 horas em água filtrada, para recuperarem-se dos eventuais danos ocorridos. Após este período, outras duas raízes foram retiradas e fixadas (48h). No grupo controle negativo (Co-) as cebolas permaneceram durante todo o tempo das amostragens em água filtrada. E o grupo controle positivo (Co+) foi realizado com 80 mg de paracetamol/mL de água filtrada.

As lâminas foram analisadas em microscópico de luz, com objetiva de 40x, contando mil células por bulbo, totalizando cinco mil células para cada tempo de amostragem (0h, 24h e 48h), para os grupos controles e tratados. Para a avaliação da citotoxicidade foi determinado o Índice Mitótico (IM %): razão do número de células em divisão pelo número total de células analisadas, multiplicado por 100. Para a determinação da mutagenicidade foram contabilizadas as células com alterações estruturais, como metáfases colchicínicas ou desorganizadas, anáfases multipolares ou com cromossomos soltos, micronúcleos e outras, e foi feito o cálculo do Índice Mutagênico (IMG %), razão do número de células alteradas pelo número total de células analisadas, multiplicado por 100.

A análise estatística, para a comparação das médias dos IMs e IMGs, foi feita por análise de variância (one way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$, $p<0,05$, $n=5$), pelo programa *Action Stat*.

4.8 TESTE DE CITOTOXICIDADE/ATIVIDADE ANTITUMORAL

As células HTC, derivadas de hepatoma de *Rattus norvegicus*, foram cultivadas em frascos de cultura de 25cm², contendo 10mL de meio de cultura DMEM, suplementado com 10% de soro bovino fetal, e incubadas em estufa do tipo BOD a 37 °C.

O ensaio de citotoxicidade do MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-il)-2,5-diphenil tetrazolium bromide] seguiu o protocolo sugerido por Mosmann (1983). Foram utilizadas placas de cultura celular de 96 poços, onde em cada poço foram semeadas $2,0 \times 10^4$ células. Após 24 horas, o meio de cultura de cada poço foi descartado e adicionado 100 μ L de meio novo com os tratamentos: controle negativo (meio de cultura), tratamento com o agente citotóxico metil metanossulfonato (MMS) (concentração final de 150 μ M) e tratamentos com os extratos etanólicos dos frutos verdes (EV) e maduros (EM) de carambola, diluídos em meio de cultura, nas concentrações finais de 1, 5, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500 e 1000 μ g mL⁻¹.

As células foram incubadas por 24, 48 e 72 horas, e após este tempo, o meio de cultura foi substituído por 100 μ L de meio livre de soro, acrescido de MTT na concentração de 0,167 mg/mL. A placa foi incubada por mais 4 horas e, na sequência, o meio contendo MTT foi descartado e aos poços foram adicionados 100 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO), para diluição dos cristais de formazan formados. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (FlexStation) a 550 nm.

A viabilidade celular é calculada para fins de efeitos de proliferação celular ou toxicidade é obtiva através da Equação 3.

$$Viabilidade\ Celular = \frac{absorb\ancia\ do\ tratamento}{absorb\ancia\ do\ controle\ negativo} * 100 \quad (3)$$

A análise estatística, para a comparação das médias das absorbâncias, foi feita por análise de variância (one way ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$, $p<0,05$, $n=8$), pelo programa *Action Stat*.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Com relação aos resultados físico-químicos das carambolas verdes e maduras (Tabela 1), nota-se que os valores de pH indicam que a fruta possui caráter ácido, sendo que a fruta verde possui pH ainda menor (verde: $3,22 \pm 0,88$, madura: $3,51 \pm 0,02$). Estes dados corroboram com o observado por Fragoso (2013), onde os exemplares verdes continham maior quantidade de ácido presente em estado livre, sendo assim, notou-se que o pH é influenciado pelo estado de maturação da fruta. Mesmo assim, os dados do presente estudo mostram valores de pH menores que os encontrados por Torres et al. (2003) (verde: 3,52, madura: 3,69), o que pode ser justificado pelo grau de maturação da fruta ou pela espécie analisada neste trabalho ser diferente dos testes realizados por esses autores.

Tabela 1 - Dados físico-químicos médios e desvio-padrão dos sucos de carambola verde e madura.

Amostra	Parâmetro				
	Ph	Acidez Molar (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Sólidos Solúveis (°Brix)
Carambola Verde	$3,22 \pm 0,88^a$	$0,44 \pm 0,00^a$	$90,30 \pm 0,34^a$	$0,28 \pm 0,04^a$	$6,25 \pm 0,28^a$
Carambola Madura	$3,51 \pm 0,02^a$	$0,25 \pm 0,00^a$	$90,66 \pm 0,13^a$	$0,42 \pm 0,13^a$	$7,87 \pm 0,25^b$

Colunas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Fonte: autora (2019).

Na análise de acidez molar, os frutos apresentaram maior concentração de ácido cítrico no estágio verde que no maduro. Porém, essa diferença não foi significativa, então, estatisticamente a concentração de ácido nos dois estágios de maturação é equivalente. Dados semelhantes foram encontrados por Torres et al. (2003) e Almeida et al. (2011), apesar de os frutos maduros destes trabalhos terem apresentado acidez molar ainda menor que no presente estudo (0,17%), o que pode ser explicado pelo nível de maturação do fruto destes trabalhos, que podem ter sido diferentes dos adotados neste ensaio.

A porcentagem de umidade encontrada na carambola foi alta, o que corrobora com o relatado por Torres et al. (2003) (90,57%), que mostra alto teor de

água na fruta. A fruta no estágio maduro apresentou um pequeno acréscimo de umidade em relação a verde, não apresentando diferença significativa.

Constatou-se que o teor de cinzas (Tabela 1) aumentou com a maturação da carambola, assim como o teor de sólidos solúveis, que foi estatisticamente maior nos frutos maduros se comparado aos frutos verdes. Os dados mostram que o teor de cinzas diminuiu pela metade nos frutos verdes, o que foi semelhante aos resultados relatados por Almeida et al. (2011) (madura: 0,41%, verde: 0,19%).

Com relação aos sólidos solúveis, os maiores teores nos frutos maduros podem ser explicados devido ao processo de amadurecimento mais evoluído e a maior quantidade de compostos contidos na qualidade madura. Além disso, os valores em graus Brix apresentados foram muito parecidos aos de Torres et al. (2003) (verde: 6,57 °Brix e madura: 7,45 °Brix) e Almeida et al. (2011) (verde: 6,42 °Brix e madura: 7,98 °Brix).

5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Com relação à atividade antioxidante dos extratos etanólicos de carambola verde e madura (Tabela 2), dados esses obtidos através das absorbâncias lidas pelo método de sequestro de radicais livres DPPH.

Tabela 2 –Atividade antioxidante dos extratos etanólicos de carambola madura e verde em relação ao tempo, pelo método de sequestro de radicais livres DPPH.

Carambola	Tempo (min)	Extrato etanólico bruto
		%I
Madura	0	31,15±0,45 ^{aA}
	5	66,55±0,35 ^{bA}
	10	79,07±0,90 ^{cA}
	20	89,05±0,43 ^{dA}
	30	92,55±0,30 ^{eA}
Verde	0	65,48±1,68 ^{aB}
	5	92,71±0,47 ^{bB}
	10	93,06±0,56 ^{bB}
	20	93,19±0,52 ^{bB}
	30	93,25±0,49 ^{bA}

Linhas com a mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si na comparação entre os diferentes tempos de avaliação do extrato etanólico bruto das carambolas maduras ou verdes, letras maiúsculas referem-se a comparação entre o mesmo tempo de avaliação, de cada extrato, de carambolas maduras e verdes, pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Fonte: autora (2019).

Estes dados mostram que o solvente etanol é eficiente na extração de compostos antioxidantes das carambolas. De acordo com Roesler (2007), a extração etanólica, quando comparada com a extração aquosa, é mais eficiente para remoção dos compostos fenólicos das diferentes frações de diversas frutas analisadas pelos autores, ou seja, compostos que possuem atividade antioxidante incluindo a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados e os flavonoides.

A cinética dos extratos pode ser classificado de acordo com o tempo de consumo de 50% do radical DPPH (TC50) em rápido (TC50 < 5 minutos), intermediário (TC50 entre 5 e 30 minutos) ou lento (TC50 > 30 minutos) (SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998).

Comparando os dados obtidos pelo experimento com o composto sintético BHT notou-se um maior potencial antioxidante para os extratos etanólico para as carambolas verde e madura em relação a este padrão. Observando os dados da Tabelas 2 os extratos etanólico apresentou cinética rápida, onde, no tempo de 30 mi de reação a carambola madura e verde apresentou alto poder de sequestro do radical livre DPPH, não diferindo significativamente. Observa-se que a cinética da reação com o DPPH foi rápida para ambas as amostras, consumindo mais de 50% do radical em menos de 5 minutos.

5.3 PRODUÇÃO DOS EXTRATOS

Durante os processos de extrações, é importante a secagem dos frutos para não ocorrer a não competição entre a água contida no fruto e o solvente utilizado no processo, no caso o etanol. Todavia, a secagem não foi realizada visto que, em pré-testes, mesmo secando os frutos cortados em estufa com circulação de ar por 72h, os frutos ainda apresentavam grande umidade e inclusive formação de mofo em seus exemplares, como mostrado na Figura 2. Isso pode ter ocorrido, porque, segundo Sritharan et. al. (2019), existe a presença de um fungo endófito de nome *Biscogniauxia capnodes* no fruto da carambola. Provavelmente as condições de secagem criaram ambiente propício para a proliferação destes microrganismos. Sendo assim, os extratos etanólicos brutos foram feitos com a fruta *in natura*, para a não interferência destes microrganismos nos testes citotóxicos subsequentes a extração.

Figura 2 – Mofo apresentado no processo de secagem das carambolas.



Fonte: A autora (2019).

Além disso, devido a grande quantidade de fibras e particulados presentes nos extratos produzidos (Figura 3) optou-se pela filtração a vácuo utilizando gaze como filtro e, o extrato apresentou-se homogêneo ao fim do processo.

Figura 3 – Processo de produção dos extratos etanólicos das carambolas verdes e maduras e sua elevada quantidade de material particulado.



Fonte: A autora (2019).

Os extratos etanólico das carambolas verdes e maduras apresentaram elevados tempos de rotaevaporação para recuperação do solvente, sendo que um litro de extrato demorou aproximadamente dez horas para rotaevaporar a

temperatura de 40 °C. Este tempo pode ser explicado pela grande quantidade de sólidos solúveis presentes no fruto, como exemplificado na Tabela 1.

Os dados da Tabela 3 mostram os valores do rendimento total de extração, calculado depois da rotaevaporação dos extratos etanólico de carambolas verdes e maduras, assim como o rendimento de extração por Soxhlet. O rendimento por Soxhlet, teoricamente, seria maior que o rendimento total, visto que por este método a amostra do fruto entra em contato com solvente puro, o que potencializa a extração. Todavia esse fato não ocorreu neste experimento, em que os rendimentos totais foram maiores que os por Soxhlet. Estes resultados podem ser, provavelmente, devido a presença dos compostos aos fotossensíveis nos extratos produzidos no presente estudo, que não foram degradados pela baixa temperatura de extração e rotaevaporação. Além disso, pode ser devido ao processo de filtração dos extratos, que foi feita com gaze. Esta filtração pode ter deixado muita massa de carambola, tornando assim o extrato mais particulado, acarretando em um peso final maior.

Tabela 3 – Rendimento total e rendimento por Soxhlet dos extratos etanólico de carambola verde e madura.

Extrato	Grau de maturação	Rendimento Total (%)	Rendimento por Soxhlet (%)
Etanólico	Carambola Verde	12,5778	5,8364±0,0093
	Carambola Madura	10,6217	4,0142±0,0148

Fonte: Autora (2019).

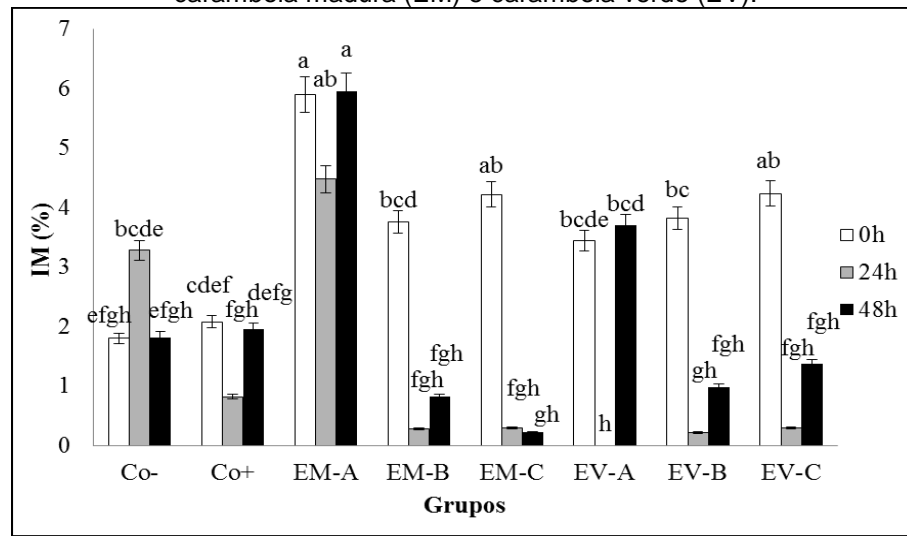
Como citado por Fragoso (2013), a carambola do tipo verde contém maior teor de ácido oxálico, o que acarretou, conseqüentemente, no maior rendimento no extrato etanólico bruto de carambola verde do presente estudo.

5.4 TESTE DE CITOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE COM *A. cepa*

Os dados da Figura 4 apresentam os valores médios dos índices mitóticos e desvios-padrões obtidos com as células meristemáticas de *A. cepa* tratadas com os extratos etanólicos de carambola verde e madura. Os dados mostram que somente o tratamento com o extrato etanólico bruto de carambola madura, na menor concentração (EM-A: 5 µg/mL) não apresentou efeito citotóxico para este bioindicador vegetal *in vivo*. Os demais tratamentos com os extratos etanólicos de

carambolas maduras (EM-B: 500 µg/mL e EM-C: 1000 µg/mL) e verdes (EV-A: 5 µg/mL; EV-B: 500 µg/mL e EV-C: 1000 µg/mL) foram citotóxicos, promovendo a diminuição do índice mitótico estatisticamente diferente do controle negativo no mesmo tempo de avaliação (24 horas) e do próprio do próprio bulbo (0 hora).

Figura 4 - Percentuais médios dos índices mitóticos (IM%) obtidos para os controles negativo (Co⁻) e positivo (Co⁺), e os grupos tratados com as diferentes concentrações dos extratos etanólico brutos de carambola madura (EM) e carambola verde (EV).



Tempos de amostragem: Controle 0 hora= 0h, Tratamento 24 horas= 24h, Recuperação 48 horas= 48h. A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2019).

Camparoto et al. (2001), também mostraram a diminuição dos índices mitóticos das raízes de cebola após 24 horas de exposição a um chá das folhas de carambolas. Entretanto, neste caso, os dados não foram estatisticamente significativos se comparados aos seus controles.

Vale destacar que a maior concentração do extrato etanólico bruto de carambola madura (EM-C), no presente estudo, apresentou, no tempo de recuperação (48h), índice mitótico ainda menor que o tempo de tratamento (24h), o que mostra que o efeito da(s) toxina(s) presente(s) no fruto foi tão grave nesta maior concentração que não houve recuperação celular. Neste sentido, Camparoto et al. (2001) também mostrou que, no período de recuperação, a concentração de 0,07 mg/mL do chá de folhas de carambola não conseguiu responder ao processo de recuperação, mostrando um índice médio total menor que seus controles, e que o efeito inibitório do tratamento foi cumulativo, porque houve uma manutenção ou até

mesmo um aumento deste efeito após o período de recuperação, semelhante ao observado no presente estudo.

Nos demais tratamentos (EM-B, EV-A, EV-B e EV-C), foi possível observar, no tempo de 48 horas, a recuperação das células meristemáticas de *A. cepa*, após a exposição aos extratos, pois os índices mitóticos foram maiores que os apresentados no tempo de tratamento (24h). Entretanto, somente para a menor concentração do extrato de carambola verde (EV-A) que este aumento nas divisões celulares foi estatisticamente significativo.

A comparação das mesmas concentrações avaliadas dos extratos de carambola verde e madura mostra que somente a menor concentração (A: 5 µg/mL) desses extratos apresentaram índices mitóticos estatisticamente diferentes, visto que o extrato de carambola madura apresentou percentual de divisão celular nulo. As demais concentrações apresentaram índices mitóticos e, citotoxicidades, estatisticamente semelhantes. Esses dados corroboram os dados das análises físico-químicas (Tabela 1 e 2), que mostram que ambas as frutas e extratos foram semelhantes na maior parte das análises realizadas.

Uma explicação para a atividade citotóxica apresentada pelos extratos frente as células normais de cebola *in vivo*, pode ser a elevada acidez desses frutos, conforme Tabela 1, principalmente no fruto verde. Essa acidez, em grande parte, é fornecida pelo ácido oxálico presente no fruto, que de acordo com Fragoso (2013), é extremamente forte e venenoso. Ainda, segundo Barros (2013), a neurotoxina caramboxina está presente juntamente com esse ácido na fruta carambola, o que pode ter auxiliado na citotoxicidade apresentada no presente estudo.

Os dados da Tabela 4 mostram os valores dos índices de mutagenicidade (IMG%) obtidos para os grupos tratados com os extratos etanólicos de carambolas verdes e maduras. De acordo com os resultados, o único grupo que apresentou mutagenicidade foi a menor concentração do extrato de carambola madura (EM-A), que apresentou IMG diferente do controle negativo (Co- 24h), diferente do controle do próprio bulbo (EM-A 0h) e dos demais grupos testados (tempos de 24h), tanto no extrato maduro como no verde. Portanto, os resultados mostram que este tratamento não apresentou citotoxicidade, porém foi mutagênico para as células da cebola *in vivo*. Desta forma, talvez essa menor concentração testada, ainda seja muito alta para as células normais das raízes de *A. cepa*. Ainda, como neste tratamento o índice mitótico foi maior que o do controle negativo (tempo 24h), de

acordo com Vasconcelos (2000), as células podem ter codificado proteínas que desviaram a cascada de eventos que controlam a proliferação celular, no sentido de uma proliferação incontrolada, levando às alterações cromossômicas observadas no presente estudo e, conseqüentemente, podendo induzir neoplasias (VASCONCELOS, 2000).

Tabela 4 – Tipos, números, total de alterações e índice mutagênicos (IMG %) obtidos para os grupos controle negativo (Co-) e positivo (Co+) e os grupos tratados com as diferentes concentrações dos extratos etanólicos brutos de carambola madura (EM) e verde (EV), nos tempos 0, 24 e 48 horas, em células de raiz de *A. cepa*.

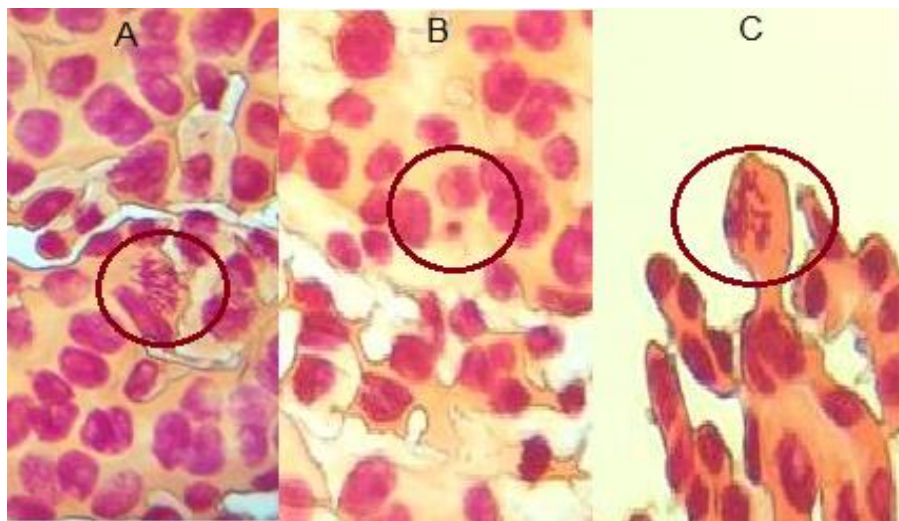
Tratamentos		Fases da mitose								Total de Alterações	IMG (%)
		Intérfase		Metáfase		Anáfase		Telófase			
		MN	MD	MCS	MC	ACP	AD	ACS	TCP		
Co-	0h	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,02 ^b
	24h	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,02 ^b
	48h	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,02 ^b
Co+	0h	0	1	0	0	0	1	0	0	2	0,04 ^b
	24h	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0,04 ^b
	48h	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0,04 ^b
EM-A	0h	0	0	1	0	0	1	1	0	3	0,06 ^b
	24h	0	0	8	4	6	6	1	0	25	0,50 ^a
	48h	0	0	0	2	5	2	0	0	9	0,18 ^b
EM-B	0h	0	1	1	0	0	1	0	0	3	0,06 ^b
	24h	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,02 ^b
	48h	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0,04 ^b
EM-C	0h	0	1	0	0	0	3	0	0	4	0,08 ^b
	24h	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,02 ^b
	48h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ^b
EV-A	0h	0	0	0	2	0	1	0	0	3	0,06 ^b
	24h	0	0	0	1	0	2	0	0	3	0,06 ^b
	48h	0	0	4	4	0	0	0	0	8	0,16 ^b
EV-B	0h	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,02 ^b
	24h	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,02 ^b
	48h	0	0	3	2	2	2	0	0	9	0,18 ^b
EV-C	0h	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0,04 ^b
	24h	1	0	1	0	0	1	0	0	3	0,06 ^b
	48h	0	0	1	0	1	3	0	0	5	0,10 ^b

A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL. MN= Micronúcleo; MD= Metáfase desorganizada, MCS= Metáfase com cromossomo solto; MC= Metáfase colchicina; ACP= Anáfase com ponte; AD= Anáfase desorganizada; ACS= Anáfase com cromossomo solto; TCP= Telófase com ponte. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Autora (2019).

As principais alterações cromossômicas encontradas no presente estudo, em especial com a concentração de 5 µg/mL do extrato de carambola madura, foram nas fases da metáfase e anáfase, a se citar metáfases e anáfases desorganizadas, com cromossomos soltos e pontes (Figura 5). Estas alterações mostram, possivelmente, a presença de agentes que interferiram na formação das fibras do fuso e, conseqüentemente, levaram à formação destas aberrações cromossômicas.

Figura 5 – Alterações cromossômicas encontradas nas células meristemáticas de *A. cepa* tratadas com 5 µg/mL de extrato etanólico bruto de carambola madura.



A: Anáfase com ponte, B: micronúcleo, C: metáfase colchicina.

Fonte: A autora (2019).

5.5 TESTE DE CITOTOXICIDADE/ATIVIDADE ANTITUMORAL (HTC)

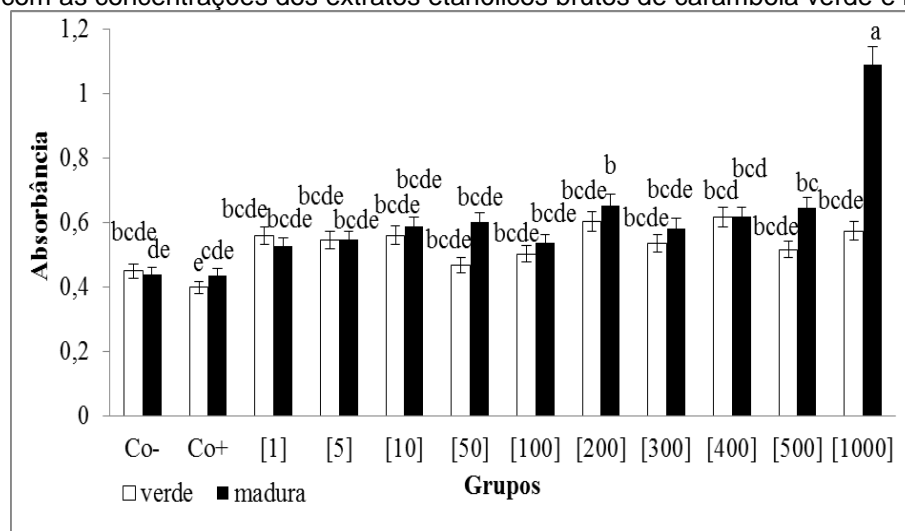
Os dados da Figura 6 apresentam os valores médios de absorvância e desvios-padrões obtidos com as células HTC tratadas com os extratos etanólicos de carambolas verdes e maduras, no tempo de 24 horas. Os dados mostram que todas as concentrações do extrato de carambola verde foram estatisticamente semelhantes ao controle negativo, não apresentando efeito citotóxico. Além disso, todas as concentrações do extrato etanólico bruto da carambola verde, no tempo de 24h, foram semelhantes entre si, mostrando independência da concentração testada.

Já para o extrato de carambola madura, as concentrações de 200 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL apresentaram absorvâncias maiores e diferentes estatisticamente do controle negativo, o que indica estímulo da divisão celular destas

concentrações avaliadas neste tempo. Além disso, a concentração de 1000 µg/mL deste extrato etanólico bruto de carambola madura foi diferente estatisticamente das demais concentrações avaliadas deste mesmo extrato e da mesma concentração do extrato de carambola verde. Vale destacar que as viabilidades celulares (Tabela 5) de todas as concentrações do extrato de carambola madura foram maiores que a do controle negativo (100%), chegando a 250% na concentração de 1000 µg/mL.

A indução da divisão celular observada no extrato de carambola madura pode ser explicada pela grande quantidade de nutrientes contidos na carambola e o grande potencial antioxidante. Os estudos de Guéant et al. (2013) e Wang et al. (2014) mostram que a concentração de vitamina C está diretamente relacionada com o crescimento e multiplicação celular. Também, a estimulação das divisões celulares das células tratadas com extratos frutuosos está relacionada à existência de compostos bioativos presentes nos frutos, como vitaminas, compostos fenólicos, antioxidantes, dentre outros (RIZZON et al., 2007; RIZZON; MIELE, 2012).

Figura 6 - Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato tratadas por 24 horas com as concentrações dos extratos etanólicos brutos de carambola verde e madura.



Co-: Controle Negativo; Co+: Controle Positivo; $2,0 \times 10^4$ células por poço. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

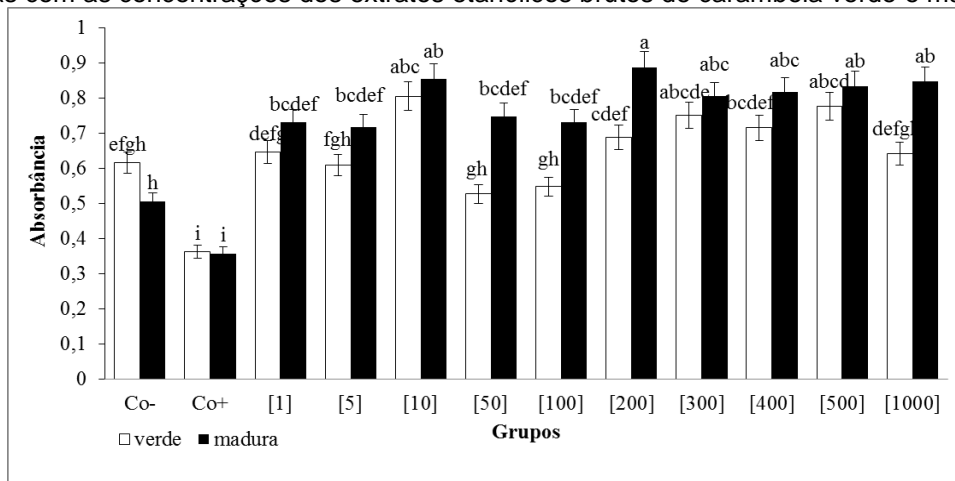
Fonte: Autora (2019).

No tempo de 48 horas (Figura 7) observou-se que as concentrações de 10 µg/mL e 500 µg/mL do extrato de carambola verde e todas as concentrações do extrato de carambola madura, foram diferentes do controle negativo neste tempo de avaliação, apresentando absorbâncias estatisticamente maiores e indução das divisões celulares das células tumorais. As viabilidades celulares (Tabela 5),

calculadas conforme Equação 3, novamente foram de 130% e 125% para as concentrações de 10 µg/mL e 500 µg/mL do extrato de carambola verde e de 142 a 168% para o extrato de carambola madura. Novamente estes dados podem ser justificados pelo elevado teor de vitaminas destes extratos que, inicialmente, podem servir de nutrientes à estas células e induzir a proliferação celular. Resultado semelhante foi obtido por Düsman (2014), utilizando como tratamento o suco integral e natural de uvas convencionais e orgânicas e Rocha (2018), utilizando extratos de bagaço de uva, onde a viabilidade celular e a proliferação celular aumentaram no horário de 48 horas de tratamento, em células HTC. Logo, a grande quantidade de vitaminas e antioxidantes presentes na carambola contribuíram para a proliferação celular, como a maioria dos extratos de frutas citadas.

Inclusive, a concentração de 10 µg/mL do extrato etanólico bruto de carambola verde apresentou absorvância estatisticamente maior que a de 1 µg/mL, 5 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL e 1000 µg/mL. E, a concentração de 200 µg/mL do extrato de carambolas maduras foi diferente estatisticamente das concentrações de 1 µg/mL, 5 µg/mL, 50 µg/mL e 100 µg/mL.

Figura 7 - Absorvância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato tratadas por 48 horas com as concentrações dos extratos etanólicos brutos de carambola verde e madura.



Co-: Controle Negativo; Co+: Controle Positivo; $2,0 \times 10^4$ células por poço. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2019).

A comparação entre as mesmas concentrações avaliadas dos extratos de carambola verde e madura mostram que as concentrações de 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL e 1000 µg/mL apresentaram diferença estatísticas no tempo de 48h, sendo que o extrato maduro apresentou maior estímulo no aumento da divisão

celular, quando comparado com o extrato verde. Conforme a Tabela 1, isso pode ser comprovado pela maior quantidade de cinzas e sólidos solúveis que atestam uma maior concentração de compostos nutracênticos na qualidade madura do fruto.

Tabela 5 - Percentual de viabilidade de células (VC) tumorais de fígado de rato, tratadas com os extratos etanólicos brutos de carambola madura (EM) e verde (EV), por 24, 48 e 72 horas, pelo teste do MTT.

Grupos	Célula Tumoral Hepática de Ratos		
	VC [%]		
	24 h	48 h	72 h
CO-	100	100	100
CO+	101,1792	70,81375	63,84931
1 µg/mL	121,3402	144,4967	101,0736
5 µg/mL	125,7981	142,048	109,6818
10 µg/mL	135,3466	168,934	93,53894
50 µg/mL	138,3952	147,9842	100,3514
100 µg/mL	123,6123	144,5709	113,0783
200 µg/mL	150,5033	175,538	109,7599
300 µg/mL	134,1961	159,1393	104,3139
400 µg/mL	142,2778	161,6374	109,9161
500 µg/mL	148,5188	164,9518	104,6848
1000 µg/mL	250,8168	167,4994	107,5346
CO-	100	100	100
CO+	88,5127636	58,7829615	58,9207849
1 µg/mL	124,278579	104,807302	91,7696221
5 µg/mL	121,08768	98,9249493	94,5130814
10 µg/mL	124,500555	130,628803	87,7361919
50 µg/mL	103,856826	85,5578093	90,6068314
100 µg/mL	111,653718	88,8438134	83,9026163
200 µg/mL	133,962264	111,622718	107,93968
300 µg/mL	119,117647	121,764706	91,2609012
400 µg/mL	137,014428	115,983773	105,141715
500 µg/mL	114,650388	125,943205	80,1235465
1000 µg/mL	127,580466	104,016227	87,9905523

CO-: Controle Negativo; CO+: Controle Positivo.

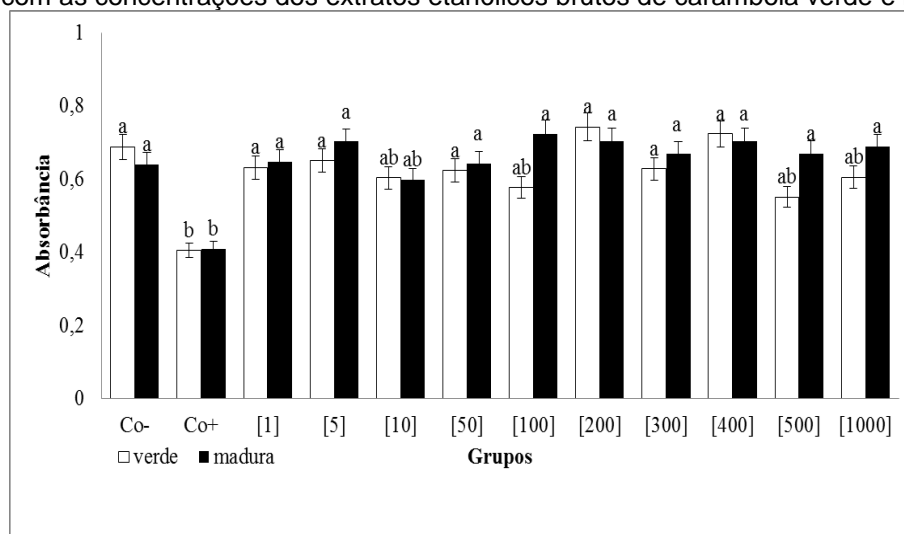
Fonte: Autora (2019).

A Figura 8 apresentam os valores médios de absorbância e desvios-padrões obtidos com as células HTC tratadas com os extratos etanólicos de carambola verde e madura no tempo de 72 horas. A análise estatística mostrou que não houve diferenças entre as diferentes concentrações dos estratos etanólicos de carambola

verde e madura com o controle negativo, indicando ausência de efeito citotóxico/antitumoral destes extratos ou efeito proliferativo celular. As viabilidades celulares (Tabela 5), inclusive, variaram de 83 a 113% neste tempo de exposição.

Assim, os dados do presente estudo mostram que nos tempos de 24h e 48h houve um estímulo da proliferação celular, porém, em 72h esta incitação cessou e as divisões celulares das células tumorais mantiveram-se iguais às do controle negativo.

Figura 8 - Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato tratadas por 72 horas com as concentrações dos extratos etanólicos brutos de carambola verde e madura.



Co-: Controle Negativo; Co+: Controle Positivo; $2,0 \times 10^4$ células por poço. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autora (2019).

Na comparação entre os dois testes citotóxicos, com *A. cepa* e HTC, os resultados foram opostos. Enquanto o extrato etanólico bruto parou o índice mitótico nas células normais de cebola, aumentou ainda mais as divisões celulares nas células tumorais de fígado de rato nos tempos de tratamento de 24h e 48h. Este evento pode ser explicado pelo fato destas células tumorais serem mais proliferativas, também contendo todas as vias apoptóticas mutadas, tornando-se assim mais resistentes à morte e auto eliminação (SERAFIM, 2018).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho apresentou bons resultados para a extração de compostos da *A. carambola*, que chegou a 5,84% pelo método de extração por Soxhlet nos exemplares verdes. Este resultado é satisfatório, visto que a umidade da fruta corresponde 90% de seu peso. Além disso, foi possível recuperar os solventes utilizados no processo em temperatura ambiente, sendo assim, minimizando a degradação de compostos termossensíveis contidos no fruto.

A avaliação físico-química atestou a acidez do fruto tanto pelo pH como pela acidez molar total. Como mencionado na literatura, a fruta se apresenta ácida, principalmente no estágio verde. Além disso, o grau de maturação influenciou principalmente nas cinzas e sólidos solúveis, atestando que a carambola madura apresenta maior quantidade de compostos nutraceutícos, quando comparada aos exemplares verdes. Também, foi confirmada a atividade antioxidante do fruto verde e maduro, utilizando a redução do radical livre DPPH.

Os resultados dos ensaios com *A. cepa* mostraram que ambos os extratos etanólicos apresentaram efeito citotóxico por inibição na divisão celular às células meristemáticas da cebola. Somente o tratamento com a menor concentração do extrato do exemplar maduro apresentou proliferação celular, porém, este tratamento também foi o único que manifestou mutagenicidade.

Nos ensaios com células HTC, a citotoxicidade foi representada pelo aumento no índice mitótico. No tempo de 24 horas, o extrato etanólico bruto de carambola madura apresentou estímulo à proliferação celular, principalmente nas maiores concentrações. Também, em 48 horas, observou-se que as concentrações de 10 µg/mL e 500 µg/mL do extrato de carambola verde e todas as concentrações do extrato de carambola madura exibiram indução das divisões celulares das células tumorais. Porém, em 72 horas de teste, esta incitação cessou e as divisões celulares das células tumorais mantiveram-se iguais às do controle negativo. Logo, nos tempos de 24 e 48 horas houve um estímulo da proliferação celular, que foi cessado em 72 horas.

Assim, os dados do presente estudo indicam que outros solventes devem ser avaliados com a fruta carambola, a fim de obter extratos mais eficientes em termos biológicos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. J. F. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de nanocápsulas convencionais e furtivas contendo Ácido Úsnico.** Dissertação (Mestrado – Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia). Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife. 2010.
- ALMEIDA, M. B.; SOUZA, W. C. O.; BARROS, J. R. A.; BARROSO, P. A.; VILAR, F. C. R. Caracterização física e química dos frutos de carambola (*Averroa carambola* L.) produzidos em Petrolina- PE. **Revista Semiárido De Visu**, v. 1, n. 2, p. 116-125. 2011.
- ATKINS, P.W., JONES, L. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente.** 5ª ed. Porto Alegre. 2012.
- ATJANASUPPAT, K.; WONGKHAM, W.; MEEPOWPAN, P.; KITTAKOOP, P.; SOBHON, P.; BARTLETT, A.; WHITFIELD, P.J. *In vitro* screening for anthelmintic and antitumour activity of ethnomedicinal plants from Thailand. **Journal of Ethnopharmacology**, nº 123, p. 475-482. 2009.
- AZEEM, A K; DILIP, C; PRASANTH, S. S.; JUNISE, V.; SHAHIMA, H.; Antinflammatory Activity of the Glandular Extracts of *Thunnus Alalunga*. **Asia Pac. J. for Med.**, v. 3, nº. 10, p. 412-420. 2010.
- BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** 2007.
- BARROS, J.C. Toxina da carambola é isolada. **Revista Pesquisa**, Edição Online. 2013. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2013/11/25/toxina-da-carambola-e-isolada/>>. Acesso em: 14/01/16.
- BASTOS, D. C. A cultura da carambola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, nº. 2, p.193-384. 2004.
- BORATYŃSKA, K.; HUSEYNOV, R. An innovative approach to food security policy in developing countries. **Journal of Innovation & Knowledge**, v. 2, p. 39-44. 2017.
- BORGES-OSÓRIO, M. R.; ROBINSON, W. M.; **Genética Humana.** 3ª ed. Ed. Artimed, Porto Alegre. 2013.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 22, p. 25-30. 1995.
- CORRÊA, A. M. S.; ESCAMILLA, R. P.; MARANHA, L. K.; SAMPAIO, M. F. A. **(In) Segurança Alimentar no Brasil – validação de metodologia para acompanhamento e avaliação.** Unicamp. São Paulo. 2003.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. 6. 1962.

CARVALHO, D. R., LOCATELLI, C. **Avaliação da Atividade Antitumoral *in vitro* e Antimetastática *in vivo* do Tetradecil Galato**. I SIPEX - Seminário integrado de pesquisa e extensão Universitária. Campinas. 2009.

DONADIO, L.C.; SILVA, J.A.A.; ARAÚJO, P.R.S.; PRADO, R.M. **Caramboleira (*Averrhoa Carambola L.*)**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, p.81.(Série Frutas Potenciais). 2001.

DÜSMAN, E. **Avaliação da ação citotóxica e mutagênica do iodo-131 e da acerola (*malpighia glabra l.*), e radioprotetora da fruta em relação ao radiofármaco, em doses diagnóstica e terapêutica, em tratamentos agudo e subcrônico, de ratos wistar**. Maringá: UEM, 2009. 223 p. Tese (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

FERREIRA, C. P. S. **Extração em meio aquoso e concentração por processos de membranas de fibras solúveis a partir do bagaço de uva branca**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Técnico Lisboa. Rio de Janeiro. 2013.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as standard in environmental monitoring. **Hereditas**. v. 102, p. 99-112. 1985.

FRAGOSO, R. **Carambola**. 2013. Forma Saudável.com. Disponível em: <<http://formasaudavel.com.br/carambola/>> Acesso em: 08/09/18.

GARCIA, L. P. **Liofilização aplicada a alimentos**. Trabalho Acadêmico (Graduação Bacharelado em Química de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2009.

GARCIA-CAIRASCO, N. et al. **Elucidating the Neurotoxicity of the Star Fruit**. *Angewandte Chemie*. 2013.

GLINSKIY, V.; SERGA, L.; ALEKSEEV, M.; SAMOTOY, N.; SIMONOVA, E. The Development of the Food Industry as a Condition for Improving Russia's National Security. **Procedia Manufacturing**, v. 21, p. 838-845. 2018.

GONÇALVES, S. T.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, F. A.; SARTORETTO, J.L.; CORTEZ, D. A. G.; FERNANDES, C. A. M.; BERSANI- AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. **Avaliação das atividades hipoglicemiante e anti hiperglicemiante do extrato hidroalcolólico das folhas da *Averrhoa carambola L.* (Oxalidaceae) em modelos experimentais de hiperglicemia**. Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá. v. 27, nº. 1, p. 49-55. 2005.

GUÉANT, J. L.; CAILLEREZ-FOFOU, M.; BATTAGLIA-HSU, S.; ALBERTO, J. M.; FREUND, J. N.; DULLUC, I.; ADJALLA, C.; MAURY, F.; MERLE, C.; NICOLAS, J. P.; NAMOUR, F.; DAVAL, J. L. Molecular and cellular effects of vitamin B12 in brain,

myocardium and liver through its role as co-factor of methionine synthase. **Biochimie**, v. 95, p. 1033-1040, 2013.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F., PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**. Fortaleza. 2010.

LEAL, A. L., MARQUES, C. A. O Conhecimento Químico e a Questão Ambiental na Formação Docente. **Química Nova**, nº. 29, p. 30- 33. 2008.

LIMA, E. J. C. **Síntese e estudo da atividade antitumoral de análogos de alcóxicicloalquilicos da metiltefosina**. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Fármacos e Medicamentos). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2014.

LOPEZ, L. **Compostos Bioativos**. Universidade Cruzeiro do Sul. 2015. Disponível em: <<https://www.cruzeirodosul.edu.br/noticias/voce-sabe-o-que-sao-compostos-bioativos>>. Acesso em: 01/10/18.

MANTUANELLI, M. R.; MATSUMOTO, S. T.; JAMAL, C. M.; MALASPINA, O.; MARIN-MORALES, M. A. **Evaluation of the genotoxicity/mutagenicity and antigenotoxicity/antimutagenicity induced by propolis and *Baccharis dracunculifolia*, by in vitro study with HTC cells**. Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Toxicology in Vitro. Espirito Santo. 2015.

MAZZEO, D.E.C. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do BTEX, antes e após o processo de biorremediação por microrganismos, utilizando os sistemas teste de *Allium cepa* e cultura de células de mamífero**. Tese (Mestrado– Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Biologia Celular e Molecular). Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2009.

MORTON, J.F. Fruits of warm climates. Carambola. In: MORTON, J.F. (Ed.). Miami: [s.n.], p. 125-128. 1987.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**. v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NOVAIS, R. **Carambola afeta saúde de pessoas com problemas renais**. 2015. Disponível em: <<http://www.minhavidade.com.br/alimentacao/materias/18189-carambola-afeta-saude-de-pessoas-com-problemas-renais>> Acesso em 09/09/18.

OLIVEIRA, C. J.; VINHAS, A. C. A.; SANTOS, L. M. **Comparação entre métodos de extração na determinação do teor de ácido oxálico em carambola (*Averrhoa carambola*)**. Universidade Federal de Santa Catarina (QMC/UFSC). Florianópolis. 2016.

OLIVEIRA, E.S.M.; AGUIAR, A. S. **Por que a ingestão de carambola é proibida para pacientes com doença renal crônica?** Artigo de revisão. J Bras Nefrol nº.37 p.241-247. 2015.

PALITO, G. F.; SILVA, C. F. G. 1, MENDES, M. P.; ALMEIRA, V. V.; ROCHA, C. L. M. S. C.; TONIN, L. T. D. Composição centesimal, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutos de MorindacitrifoliaLinn (noni) cultivados no Paraná. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n.1, p. 59-66. 2015.

PANELLI-MARTINS, B. E. **Análise de método de avaliação da segurança alimentar e nutricional: uma contribuição á política municipal de SAN.** Tese (Mestrado – Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde). Universidade Federal da Bahia. Salvador. 2007.

POMMER, C. V.; SOBIERAJSKI, G. R.; YAMANISHI, O. K. Carambola. **Revista O Agrônomo**. Campinas. P 11/14. 2006.

PROJETO DE LEI Nº 1641/2015. **EMENTA: Torna obrigatória a afixação de cartaz contendo aviso sobre os riscos do consumo de Carambola para doentes renais crônicos na cidade do Rio de Janeiro.** Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://mail.camara.rj.gov.br/APL/Legislativos/scpro1316.nsf/13df1141087cf5230325775900523a40/3c1836839c0619ed83257eff0046cce2?OpenDocument&Start=1&Content=80&Collapse=1>> Acesso em 09/09/18.

REIS, R. C.; VIANA, E. S.; JESUS, J. L.; LIMA, L. F.; NEVES, T. T.; CONCEIÇÃO, E. A. Compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades melhoradas de mamão. **Ciência Rural**, v. 45 nº. 11. Santa Maria. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782015001102076&lng=en&nrm=iso&tIng=pt>. Acesso em: 01/10/18.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. Suco de uva. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 45, 2007.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Analytical characteristics and discrimination of Brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, p. 93-97, 2012.

ROCHA, A. M. **Produção de extratos dos resíduos de indústria vinícola e sua avaliação antioxidante e citotóxica.** Trabalho de Conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão. 2018.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do Cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. 2007.

ROGEROA, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDAB, T. I.; CRUZB, A. S. **Teste *in vitro* de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias.** v.6, nº. 3 .p. 317-320. 2003.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food. Agric.* v.76, p. 270-276, 1998.

SANSEVERINO, A. M. Síntese Orgânica Limpa. *Química Nova*, v. 23, nº.1, p.102 – 107. 1999.

SAWADA, M. M. **Estudo da viabilidade técnica da substituição de Hexano por Etanol no processo de extração de óleo de Soja: cinética de extração e índices de qualidade.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo. 2012.

SERAFIM, T. S. Por que é que as células cancerosas conquistam território às saudáveis? *Revista Público*. V. 7. Edição 26. 2018.

SILVA, C. B. **Avaliação da atividade antitumoral em extrato de *Inigofera suffruticosa Mill.*** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia). UFPE. Recife. 2008.

SIMONETTI, Ana Catarina. **Atividade Antitumoral e Toxicidade de Nanopartículas contendo o Ácido Fumarprotocetrárico isolado de *Cladonia verticillaris* (Líquén).** Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife. 2004.

SOARES, E. R.; MONTEIRO, E. B.; SILVA, R. C.; BATISTA, A.; SOBREIRA, F.; MATTOS, T.; COSTA, C. A.; DALEPRANE, J. B. **Compostos Bioativos em alimentos, estresse oxidativo e inflamação: Uma visão molecular da Nutrição.** Universidade do Estado do Rio de Janeiro- UERJ. Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=571>. Acesso em: 01/10/18.

SOXHLET, F. Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes. *Dinglers Polytechnisches Journal*, v. 232, 461-465. 1879.

SRITHARAN, T.; KUMAR, N.S.; JAYASINGHE, L.; ARAYA, H. ; FUJIMOTO, Y. Isocoumarins and Dihydroisocoumarins From the Endophytic Fungus *Biscogniauxia capnodes* Isolated From the Fruits of *Averrhoa carambola*. *Revistas SAGE*. 2019.

FEIFEI, S.; YUN, D.; XIAOHUA, Y. Air pollution, food production and food security: A review from the perspective of food system. *Journal of Integrative Agriculture*, v. 16, p. 2945-2962. 2017.

TOMAZIN JUNIOR, C. **Extração de óleo de Soja com Etanol e transesterificação etílica na micela.** Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências). Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. 2008.

TORRES, L. B. V.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Caracterização química de Carambolas produzidas em Região Semi-Árida do Nordeste Brasileiro. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, Especial, n.1, p.43-54, 2003.

VASCONCELOS, A. C. **Neoplasias**. Patologia Geral em Hipertexto. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2000.

VEGGI, P. C. **Obtenção de extratos vegetais por diferentes métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual De Campinas – UNICAMP. Campinas. 2009.

VICENTINI, V.E.P.; CAMPAROTO, M.L.; MANTOVANI, M.S. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. **Acta Scientiarum**, nº.23, p.593-598. 2001.

XUE-DONG, J.; SHUO, W.; MING-HUA, W.; MING-LIANG, L.; GUI-MIN, X.; XIU-JUN, L.; YUN, C.; HONG-WEI, H. Synthesis and *in vitro* antitumor activity of novel naphthyridinone derivatives. **Chinese Chemical Letters**. China. 2016.

WANG, J.; CAO, H.; XUE, X.; FAN, C.; FANG, F.; ZHOU, J.; ZHANG, Y.; ZHANG, X. Effect of vitamin C on growth of caprine spermatogonial stem cells *in vitro*. **Theriogenology**, v. 81, p. 545-555, 2014.

ANEXOS

ANEXO A – Dados brutos dos testes de toxicidade com *A. cepa*

Tabela 6 - Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células em diferentes fases do ciclo celular, obtidos os grupos controle positivo (CO⁺) e negativo (CO⁻) e os grupos tratados com os extratos etanólicos de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *A. cepa*, tempo 0h.

Grupos	Cebolas	Total de células	IM (%)	Número de Células				
				I	P	M	A	T
CO ⁺	1	1000	2,0	980	4	5	4	7
	2	1000	3,7	963	5	10	13	9
	3	1000	1,8	982	8	4	3	3
	4	1000	2,4	976	5	9	5	5
	5	1000	0,5	995	2	1	0	2
	Total	5000	2,08	4896	24	29	25	26
CO ⁻	1	1000	1,7	983	11	3	2	1
	2	1000	1,9	981	15	2	2	0
	3	1000	2,3	977	7	5	9	2
	4	1000	1,6	984	6	6	3	1
	5	1000	1,5	985	9	3	1	2
	Total	5000	1,80	4910	48	19	17	6
EM-A	1	1000	8,2	941	47	16	8	11
	2	1000	5,8	947	32	10	9	7
	3	1000	5,2	951	28	10	7	7
	4	1000	5,9	941	33	11	7	8
	5	1000	4,4	940	26	6	6	6
	Total	5000	5,90	4720	166	53	37	39
EM-B	1	1000	5,0	950	25	11	8	6
	2	1000	3,6	964	21	8	4	3
	3	1000	3,7	963	17	10	6	4
	4	1000	3,4	966	9	16	5	4
	5	1000	3,1	969	13	7	7	4
	Total	5000	3,76	4812	85	52	30	21
EM-C	1	1000	4,3	957	23	8	7	5
	2	1000	3,3	967	13	11	3	6
	3	1000	3,4	966	21	4	5	4
	4	1000	5,8	942	34	10	9	5
	5	1000	4,3	957	22	7	9	5
	Total	5000	4,22	4789	113	40	33	25
EV-A	1	1000	4,6	954	26	15	2	3
	2	1000	3,4	966	15	13	4	2
	3	1000	2,7	973	11	11	5	0
	4	1000	2,9	971	13	8	7	1
	5	1000	3,6	964	17	12	5	2
	Total	5000	3,44	4828	82	59	23	8

EV-B	1	1000	4,0	960	27	8	4	1
	2	1000	3,2	968	12	12	7	1
	3	1000	5,0	950	29	13	4	4
	4	1000	3,1	969	13	7	8	3
	5	1000	3,8	962	20	10	6	2
	Total	5000	3,82	4809	101	50	29	11
EV-C	1	1000	4,2	958	23	12	6	1
	2	1000	4,7	953	30	12	4	1
	3	1000	4,2	958	24	10	7	1
	4	1000	3,9	961	18	10	9	2
	5	1000	4,2	958	25	8	8	1
	Total	5000	4,24	4788	120	52	34	6

I=Interfase; P=Prófase; M=Metáfase; A=Anáfase; T=Telófase. A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL.

Fonte: A autora (2019).

Tabela 7 - Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células em diferentes fases do ciclo celular, obtidos os grupos controle positivo (CO⁺) e negativo (CO⁻) e os grupos tratados com os extratos etanólicos de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *A. cepa*, tempo 24h.

Grupos	Cebolas	Total de células	IM (%)	Número de Células				
				I	P	M	A	T
CO ⁺	1	1000	0,9	991	4	5	0	0
	2	1000	0,8	992	2	3	2	1
	3	1000	1,4	986	6	4	2	2
	4	1000	0,7	993	2	2	2	1
	5	1000	0,3	997	1	2	0	0
	Total	5000	0,82	4959	15	16	6	4
CO ⁻	1	1000	2,7	973	18	4	4	1
	2	1000	3,5	965	21	5	4	5
	3	1000	5,3	947	33	8	7	5
	4	1000	3,0	970	15	6	6	3
	5	1000	1,9	981	10	4	2	3
	Total	5000	3,28	4836	97	27	23	17
EM-A	1	1000	4,6	954	25	5	11	5
	2	1000	4,4	956	24	11	4	5
	3	1000	3,4	966	9	17	3	5
	4	1000	5,6	944	26	14	10	6
	5	1000	4,4	956	21	12	7	4
	Total	5000	4,48	4776	105	59	35	25
EM-B	1	1000	0,2	998	2	0	0	0
	2	1000	0,3	997	2	0	0	1
	3	1000	0,4	996	1	1	1	1
	4	1000	0,1	999	1	0	0	0
	5	1000	0,4	996	2	1	1	0
	Total	5000	0,28	4986	8	2	2	2
EM-C	1	1000	0,1	999	1	0	0	0
	2	1000	0,3	997	2	1	0	0
	3	1000	0,5	995	3	1	1	0
	4	1000	0,2	998	0	2	0	0
	5	1000	0,4	996	4	0	0	0
	Total	5000	0,3	4985	10	4	1	0
EV-A	1	1000	0	0	0	0	0	0
	2	1000	0	0	0	0	0	0
	3	1000	0	0	0	0	0	0
	4	1000	0	0	0	0	0	0
	5	1000	0	0	0	0	0	0
	Total	5000	0	0	0	0	0	0
EV-B	1	1000	0,2	998	2	0	0	0
	2	1000	0,4	996	3	0	0	1
	3	1000	0,1	999	0	1	0	0
	4	1000	0,3	997	0	1	2	0

	5	1000	0,1	999	0	0	1	0
	Total	5000	0,22	4989	5	2	3	1
EV-C	1	1000	0,1	999	1	0	0	0
	2	1000	0	1000	0	0	0	0
	3	1000	0,2	998	0	1	0	1
	4	1000	1	990	5	4	1	0
	5	1000	0,2	998	0	2	0	0
	Total	5000	0,3	4985	6	7	1	1

I=Interfase; P=Prófase; M=Metáfase; A=Anáfase; T=Telófase. A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL.

Fonte: A autora (2019).

Tabela 8 - Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células em diferentes fases do ciclo celular, obtidos os grupos controle positivo (CO⁺) e negativo (CO⁻) e os grupos tratados com os extratos etanólicos de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *A. cepa*, tempo 48h.

Grupos	Cebolas	Total de células	IM (%)	Número de Células				
				I	P	M	A	T
CO ⁺	1	1000	3,3	967	10	11	7	5
	2	1000	0,6	994	1	2	2	1
	3	1000	2,4	976	5	8	7	4
	4	1000	3,0	970	11	9	6	4
	5	1000	0,5	995	1	1	1	2
	Total	5000	1,96	4902	28	31	23	16
CO ⁻	1	1000	1,7	983	7	7	2	1
	2	1000	1,7	983	10	3	4	0
	3	1000	1,6	984	10	4	1	1
	4	1000	2,3	977	12	6	3	2
	5	1000	1,8	982	8	3	4	3
	Total	5000	1,82	4909	47	23	14	7
EM-A	1	1000	6,6	934	36	18	9	3
	2	1000	5,5	945	29	15	7	4
	3	1000	5,7	943	36	13	4	4
	4	1000	6,0	940	33	10	9	8
	5	1000	6,0	940	34	14	7	5
	Total	5000	5,96	4702	168	70	36	24
EM-B	1	1000	1,1	989	5	4	1	1
	2	1000	0,4	996	0	1	2	1
	3	1000	1,0	990	5	3	2	0
	4	1000	0,8	992	4	3	1	0
	5	1000	0,8	992	3	2	2	1
	Total	5000	0,82	4959	17	13	8	3
EM-C	1	1000	0,1	999	0	0	1	0
	2	1000	0,4	996	4	0	0	0
	3	1000	0,2	998	1	1	0	0
	4	1000	0,3	997	1	2	0	0
	5	1000	0,1	999	0	1	0	0
	Total	5000	0,22	4989	6	4	1	0
EV-A	1	1000	4,7	953	22	14	10	1
	2	1000	1,0	990	6	3	0	1
	3	1000	3,7	963	18	12	6	1
	4	1000	4,1	959	21	17	3	0
	5	1000	5,0	950	24	15	9	2
	Total	5000	3,70	4815	91	61	28	5
EV-B	1	1000	1,0	990	2	5	3	0
	2	1000	0,5	995	2	2	1	0
	3	1000	1,9	981	10	6	3	0
	4	1000	0,6	994	3	1	1	1

	5	1000	0,9	991	3	4	2	0
	Total	5000	0,98	4951	20	18	10	1
EV-C	1	1000	0,6	994	1	2	2	1
	2	1000	2,9	971	9	11	7	2
	3	1000	0,8	992	3	2	3	0
	4	1000	1,3	987	5	7	1	0
	5	1000	1,3	987	4	6	3	0
	Total	5000	1,38	4931	22	28	16	3

I=Interfase; P=Prófase; M=Metáfase; A=Anáfase; T=Telófase. A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL.

Fonte: A autora (2019).

	Total	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,02
EV-C	C1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1
	C2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C4	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,1
	C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0,04

C= Cebola; MN= Micronúcleo; MD= Metáfase desorganizada, MCS= Metáfase com cromossomo solto; MC= Metáfase colchicina; ACP= Anáfase com ponte; AD= Anáfase desorganizada; ACS= Anáfase com cromossomo solto; TCP= Telófase com ponte. A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL.

Fonte: A autora (2019).

	Total	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,02
EV-C	C1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,1
	C4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,1
	C5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,1
	Total	1	0	1	0	0	1	0	0	0	3	0,06

C= Cebola; MN= Micronúcleo; MD= Metáfase desorganizada, MCS= Metáfase com cromossomo solto; MC= Metáfase colchicina; ACP= Anáfase com ponte; AD= Anáfase desorganizada; ACS= Anáfase com cromossomo solto; TCP= Telófase com ponte. A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL.

Fonte: A autora (2019).

Tabela 11 – Tipos, números, total de alterações e percentual de índice de mutagenicidade (IMG%) obtidos grupos controle positivo (C⁺) e negativo (CO⁻) e os grupos tratados os extratos etanólicos de carambola madura (EM) e verde (EV), em células de raiz de *A. cepa*, tempo 48h.

Tratamento		Fases da Mitose							Total Alterações	IMG (%)	
		Intérfase	Metáfase			Anáfase		Telófase			
		MN	MD	MC	MS	AD	AP	AC			TP
CO ⁺	C1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,1
	C3	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,1
	C4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0,04
CO ⁻	C1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,1
	C2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,02
EM-A	C1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,1
	C2	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,1
	C3	0	0	0	1	1	1	0	0	3	0,3
	C4	0	0	0	1	1	1	0	0	3	0,3
	C5	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,1
	Total	0	0	0	2	5	2	0	0	9	0,18
EM-B	C1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C4	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0,2
	C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0,04
EM-C	C1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EV-A	C1	0	0	2	1	0	0	0	0	3	0,3
	C2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1
	C3	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,1
	C4	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,1
	C5	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0,2
	Total	0	0	4	4	0	0	0	0	8	0,16
EV-B	C1	0	0	2	0	1	0	0	0	3	0,3
	C2	0	0	0	1	0	1	0	0	2	0,2
	C3	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,1
	C4	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1
	C5	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0,2

	Total	0	0	3	2	2	2	0	0	9	0,18
EV-C	C1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,1
	C2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,1
	C3	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0,2
	C4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C5	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,1
	Total	0	0	1	0	1	3	0	0	5	0,10

C= Cebola; MN= Micronúcleo; MD= Metáfase desorganizada, MCS= Metáfase com cromossomo solto; MC= Metáfase colchicina; ACP= Anáfase com ponte; AD= Anáfase desorganizada; ACS= Anáfase com cromossomo solto; TCP= Telófase com ponte. A: 5 µg/mL; B: 500 µg/mL, C: 1000 µg/mL.

Fonte: A autora (2019).