

ATIVIDADE ANTIMUTAGÊNICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Psidium Myrtoides* O. BERG.

Morgana Cabral de Oliveira Santos, Isabelly da Silva Izidio, Larissa Carolina Lopes de Jesus, Loren Cristina Vasconcelos, Milene Miranda Praça Fontes.

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, Guararema, Departamento de Biologia - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, morganacabrals2001@gmail.com, sisabelly010@gmail.com, larissa.c.jesus@edu.ufes.br, loren-vasconcelos@hotmail.com, milenemiranda@yahoo.com.br.

Resumo

Estudos toxicológicos têm mostrado que algumas plantas medicinais apresentam agentes antioxidantes, hipoglicêmicos e anticancerígenos que podem combater a atividade de mutagênicos no organismo. Esses agentes podem ativar proto-oncogenes ou genes supressores de tumor, os quais causam alterações celulares que levam ao câncer. Logo, há uma grande necessidade de identificação de substâncias antimutagênicas capazes de amparar e proteger as células dos danos causados pela exposição de agentes mutagênicos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a composição química do óleo essencial (OE) de *Psidium myrtoides* e avaliar sua atividade antimutagênica sobre células do meristemáticas do organismo modelo *Lactuca sativa*. O OE na concentração de 187,5 mg/mL demonstrou-se incapaz de fornecer proteção à célula vegetal contra a exposição ao agente indutor metanossulfonato de metila – MMS, uma vez que potencializou o efeito deste quando aplicado previamente ou posteriormente. Nesse sentido, conclui-se que o OE de *Psidium myrtoides* na concentração utilizada possui citogenotoxicidade e não possui atividade antimutagênica.

Palavras-chave: Antimutagênico. Óleo essencial. Plantas medicinais. Ciclo celular.

Área do Conhecimento: Ciências biológicas.

Introdução

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 60% a 80% da população mundial necessitam especialmente de plantas medicinais para cuidar de sua saúde, devido à escassez de condições financeiras ou falta de acesso à medicina tradicional. Com a criação da PNPMF (Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos), o uso seguro das plantas medicinais foi incentivado e, como consequência, iniciou-se a discussão sobre a importância, dificuldade, facilidade e efetuação de seu uso. Já com a efetivação e reconhecimento do uso dos fitoterápicos no SUS (Sistema Único de Saúde) houve o aumento do acesso da população à medicação e, consequentemente, o aumento das possibilidades de tratamento, o resgate da prática milenar e o incentivo da combinação do conhecimento popular com a ciência (BRASIL, 2006; BRASIL, 2010).

Os OEs são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos na maioria das vezes por moléculas de natureza terpênica. Além disso, constituem um tipo de metabólito secundário de plantas e possuem grande importância econômica, com inúmeras aplicações principalmente nos setores alimentícios, farmacêuticos e de perfumaria (SALGADO, 2001).

Dentre as diversas espécies vegetais em potencial para estudo, as do gênero *Psidium* são usadas por apresentarem propriedades farmacológicas, como antiinflamatórios, antimicrobianos, analgésicos e antialérgicos. A espécie *Psidium myrtoides* popularmente conhecida como araçá-roxo trata-se de uma planta endêmica e nativa da Mata Atlântica, com expansão territorial abrangendo desde o estado do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul (SOUZA et al., 2018). Esta planta trata-se de uma árvore de pequeno a médio porte, podendo atingir até 10 metro de altura, além de contar com sua copa colunar e frutos pouco conhecidos. Contudo, apesar de seus frutos possuírem grande potencial para exploração econômica (TULER et al., 2017) suas folhas vem sendo motivo de pesquisas, uma vez que seu efeito medicinal se deve aos compostos biologicamente ativos presentes na planta. A folha possui flavonoides, óleos essenciais (OEs), álcoois sesquiterpenoides, ácidos triterpenoides e taninos.

Destaque é dado para os (OEs), devido aos compostos presentes em suas folhas que conferem atividade antiproliferativa em células cancerígenas, antifúngica e alelopática (SILVA et al., 2018; DIAS, 2019; VASCONCELOS et al., 2019 DE MACEDO et. al., 2020; BAYLET, 2021. FREITAS et al., 2022). As plantas são grandes reservatórios de compostos com diferentes funções e aplicações, tais como fungicidas, bactericidas, inseticidas e funções medicinais. As plantas medicinais possuem um espaço significativo na medicina (AKINBOO e BAKARE, 2007).

Dentre os organismos teste vegetal, a alface (*Lactuca sativa* L.), uma eudicotiledônea, é recomendada para testes de toxicologia ambiental (SILVEIRA et al., 2017), visto que esta espécie evidencia taxas de germinação rápidas e custo benefício que condiz com a realidade. Ademais, tem demonstrado ser confiável para os testes antimutagênicos (SILVEIRA et al., 2017).

Sendo assim, este trabalho tem por objetivo a verificação do efeito antimutagênico do OE de *P. myrtoide*s em células meristemáticas de raízes de *L. sativa*.

Metodologia

Folhas de *P. myrtoide*s foram coletadas na área experimental da UFES, no município de Alegre e secas em estufa de circulação de ar a 60°C por 12 horas. A seguir, foram trituradas, armazenadas em sacos de papel e congeladas em freezer até a extração. Os testes antimutagênicos foram efetuados com sementes de *L. sativa* obtidas no comércio local da cidade de Alegre – ES, Brasil.

O OE de *P. myrtoide*s foi extraído por hidrodestilação, em aparelho Clevenger, durante quatro horas de acordo com a metodologia recomendada pela Farmacopeia Brasileira para óleos voláteis (BRASIL, 2010). Foram realizadas ao todo 3 extrações, onde foram utilizadas cerca de 150g de folhas em aproximadamente 1000 mL de água de osmose reversa. Após a extração o óleo foi removido com micropipeta e armazenado em freezer a -20 °C. O rendimento do OE foi obtido pela razão entre a massa de óleo extraído e a massa seca das folhas (% m/m), dado pela fórmula: Rendimento (%) = massa do óleo/ massa da planta seca * 100.

As amostras dos OE extraídos das folhas foram analisadas por Cromatografia Gasosa com detector de Ionização de Chama (GC-FID) (Shimadzu GC-2010 Plus) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (GC-MS) (Shimadzu GCMS-QP2010 SE) conforme Souza et al. (2017).

Para avaliar o potencial antimutagêncio a concentração de 187,5 mg/mL do OE foi utilizada, visto que trabalhos anteriores mostraram que ela não apresentou efeitos fitotóxicos sobre a germinação e o crescimento radicular e aéreo de *L. sativa* (VASCONCELOS et al., 2019). A emulsão do OE foi preparada em cuba de ultrassom utilizando tween 80 como solvente. Água destilada e o solvente tween 80 foram utilizados como controles negativos. Metanossulfonato de metila (MMS – Sigma Aldrich) 4 x 10⁻⁴ foi utilizado como agente mutagênico indutor de dano ao DNA (NANTES et al., 2014), sendo considerado o controle positivo.

O ensaio de citotoxicidade foi realizado em condições de laboratório. Vinte e cinco sementes de *L. sativa* foram colocadas em placas de Petri umedecidas com água destilada para estimular a emissão de raízes e mantida em BOD a 24 °C. Após 24 h, elas foram transferidas para novas placas de Petri e submetidas a uns dos experimentos a seguir: (E1) tratamento com OE de *P. myrtoide*s por 48h; (E2) pré-tratamento com OE de *P. myrtoide*s por 24 horas e tratamento subsequente com MMS por 24 h; (E3) tratamento simultâneo com OE preparadas a partir de *P. myrtoide*s com adição de MMS (1: 1); (E4) pré-tratamento com MMS por 24 horas e pós-tratamento com OE de *P. myrtoide*s cultivadas por mais 24 h. Após a exposição as raízes foram coletadas e fixadas em solução (etanol: ácido acético 3: 1) e armazenados a -20 °C. Para o preparo das lâminas, os meristemas radiculares foram seccionados, corados e macerados, para então serem analisadas em microscópio de luz. Foram feitas 5 repetições para cada tratamento. O índice mitótico (IM) foi obtido através da razão entre o número de células em divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase) pelo número total de células avaliadas em cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com significância de p < 0,05. A análise foi realizada no software "Genes" (CRUZ, 2016).

Resultados

O rendimento do OE foi de 0,1401 % m/m e apresentou sete compostos químicos em sua constituição com área acima de 5%, dentre eles pode-se observar a presença majoritária de

sesquiterpeno oxigenado (SO) e sesquiterpeno hidrogenado (SH), em minoria o monoterpeno hidrocarboneto (MH) e a ausência de monoterpeno oxigenado (MO). Ademais, também foi observado a presença majoritária de dois compostos principais, sendo eles o hidrocarboneto sesquiterpeno β -cariofileno presente na composição com 29% e o α -humuleno contando com 21% em sua composição (Tabela 1).

Tabela 1 - Efeito antimutagênico do óleo essencial de *P. myrtoide*s sobre o ciclo celular de *Lactuca sativa*.

Tratamentos	IM	AC	AN	MCN	CMET	Ponte	Perdido	Aderente
Água	9.52b	0.92ab	0.62a	0a	2.814a	3.414a	0.584a	2.96a
Solvente	12ab	1.1ab	0.16a	0a	2.52a	3.03a	0.89a	2.62a
MMS	10.26ab	0.64b	0.32a	0a	1.316a	2.774a	0.204a	1.706a
E1	11.36ab	0.94ab	2.3a	0a	3.094a	1.896a	0.336a	3.068a
E2	8.88b	0.58b	1.38a	0.04a	2.72a	3.48a	0a	0.446a
E3	13.68a	1.30a	0.14a	0a	3.306a	3.536a	0a	2.65a

As médias seguidas pela mesma letra são iguais estatisticamente pelo teste de Tukey (5% de significância). IM= índice mitótico, AC= alterações cromossômicas por total de células, NA= alterações nucleares por total de células, MCN= micronúcleo, Perdido= cromossomo perdido, Aderente= cromossomo aderente, CMET= c-metáfase, Ponte= ponte. E1: tratamento com OE por 48h na concentração; E2: pré-tratamento com OE por 24 horas e tratamento subsequente com MMS por 24 h; E3: tratamento simultâneo com OE com adição de MMS (1: 1); E4: pré-tratamento com MMS por 24 horas e pós-tratamento com OE cultivadas por mais 24 h. Fonte: Própria autora.

Discussão

Os resultados do ensaio de antimutagênese apresentados demonstram que para a variável AC, o tratamento E3 causou um aumento em relação ao MMS, indicando que o OE ao invés de proteger o DNA, quando aplicado juntamente com o MMS potencializa seu efeito danoso. Sabe-se que o MMS causa danos generalizados ao DNA, como quebras de fita dupla, como consequência de sua ação alquilante (YAO et al., 2016).

Embora não tenha ocorrido diferença estatística entre os tratamentos e os controles para a variável IM e MNC, observa-se que o tratamento E2 levou a menor taxa de IM, além de ser o único tratamento que causou micronúcleos, mostrando que o OE não reduz o efeito do MMS quando aplicado previamente a ele, esta redução do IM juntamente a presença de micronúcleos indica morte celular, visto que, os micronúcleos são considerados os marcadores citológicos mais eficientes para detecção de mutagenicidade (MA et al., 1995, PALMIERI et al., 2016). Isso ocorre quando os mecanismos de reparo da célula não são capazes de reparar o dano sofrido, levando à eliminação do material genético da célula por meio da formação de micronúcleos. O crescimento e o desenvolvimento das raízes estão associados a proliferação celular, logo, se uma substância é mitodepressora, reduzindo a frequência de divisão das células, é considerada fitotóxica, pois afeta o desenvolvimento das raízes (HARASHIMA e SCHNITTGER, 2010).

Em relação às alterações cromossômicas individuais foram observadas ponte cromossômica, cromossomos perdidos, cromossomos aderentes e c-metáfases, no entanto não houve diferenças entre os tratamentos e os controles utilizados. Esses resultados demonstram a toxicidade do OE de *P. myrtoide*s sobre o ciclo celular de *L. sativa* e sua incapacidade de proteger ou reverter danos ao DNA causados por um agente mutagênico. Portanto, no presente trabalho o MMS apresentou efeitos similares aos controles negativos para grande parte das variáveis. O OE de *P. myrtoide*s mostrou-se citogenotóxico para *Lactuca sativa* mesmo em baixa concentração. Esses resultados podem estar relacionados à presença do composto majoritário beta-cariofileno, composto relatado por afetar negativamente a germinação, crescimento e ciclo celular de *Lactuca sativa* (VASCONCELOS et al., 2019).

Conclusão

Foi demonstrado que o OE de *P. myrtooides* não foi capaz de garantir proteção contra o agente mutagênico MMS, uma vez que potencializou seus efeitos quando aplicado prévia e posteriormente ao MMS. O óleo essencial não diminuiu os danos ao DNA de *L. sativa* nos tratamentos realizados.

Referências

AKINBORO, A.; BAKARE, A. A. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 470-475, 2007.

Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874107002061?casa_token=Ua-C50X1kXQAAAAA:v_ICp7AeNggawPEm1LVaPc1UPfp58MmBGXRI9v4zPJWbLWEOsEo5_bdd7Y0z4EveRhpUGwm7m9Hb. Acesso em: 06 mar. 2023.

ANDRADE-VIEIRA, Larissa Fonseca; PALMIERI, Marcel José; MASTELLA BOTELHO, Carolina; et al. Evaluation of the antimutagenic potential of *Psidium guajava* L. extracts via plant bioassays. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 443-448, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629917307214#f0010>. Acesso em: 15 set. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 214, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 14 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos.

Departamento de Assistência Farmacêutica. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 190 p.

BARDAWEEL, S. K. et al. Studies on the in vitro antiproliferative, antimicrobial, antioxidant, and acetylcholinesterase inhibition activities associated with *Chrysanthemum coronarium* essential oil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Jordan, v. 2015, n. 790838, p. 1-6, 2015. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/280566031_Studies_on_the_In_Vitro_Antiproliferative_Anti_microbial_Antioxidant_and_Acetylcholinesterase_Inhibition_Activities_Associated_with_Chrysanthemum_coronarium_Essential_Oil/link/618bb02061f09877207a28ee/download. Acesso em: 10 mar. 2023.

BAYLET, E. F. **Eficiências de extratos de *Psidium myrtooides* no controle de bactérias contaminantes do pescado**. 2021. 73 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca) – Instituto Federal do Espírito Santo, Piúma, 2021.

BIZZO, Humberto R.; HOVELL, Ana Maria C.; REZENDE, Claudia M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/qn/a/QwJBsdNzGmZSq4jKmhvVDnJ/?lang=pt&format=pdf>.

CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

DE MACÊDO, D. G.; DE ALMEIDA SOUZA, M. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; COUTINHO, H. D. M.; DOS SANTOS, A. T. L.; MACHADO, A. J. T.; DE MENEZES, I. R. A. Seasonality influence on the chemical composition and antifungal activity of *Psidium myrtooides* O. Berg. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 9-17, 2020.

DE SOUZA, T. D. S. et al. Essential oil of *Psidium guajava*: Influence of genotypes and environment. **Scientia Horticulturae**, v. 216, p. 38-44, 2017.

DIAS, R. F. C. **Estudo da composição química e atividades biológicas do óleo volátil da *Psidium myrtilloides* O. Berg (Araçá-roxo)**. 2019. 141 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2067>.

DURÃES, Emanuelle RB; DE PAULA, Joelma AM; NAVES, Plínio LF. Gênero *Psidium*: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Revista Processos Químicos**, v. 9, n. 17, p. 33-40, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/333410767_Genero_Psidium_Aspectos_Botanicos_Composicao_Quimica_e_Potencial_Farmacologico. Acesso em: 10 mar. 2023.

FREITAS, Mateus Luiz de Oliveira. **Potencial alelopático de frações do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) sobre a corda-de-violão *Ipomoea grandifolia* (Dammer) A'Donell) e caruru-roxo (*Amaranthus hybridus* L.)**. 2022. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em [Nome do Curso]) – Unicesumar - Universidade Cesumar de Maringá, Maringá, 2022.

HARASHIMA, H.; SCHNITTGER, A. The integration of cell division, growth and differentiation. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, n. 1, p. 66-74, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.11.001>.

Comentado [CdM1]:

LAIANE, Alline; DIAS, Borges; CÁSSIA, A.; et al. Composição, variação química e atividades biológicas do óleo essencial de *Psidium myrtilloides* O. Berg. [S.l.: s.n., s.d.]. Disponível em: https://sistemas.ifgoiano.edu.br/sqscursos/uploads/anexos_12/2021-05-28-12-56-46Vers%C3%A3o%20FINAL%20-%20Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf. Acesso em: 15 set. 2023.

MA, T.-H.; XU, Z.; XU, C.; MCCONNELL, H.; RABAGO, E. V.; ARREOLA, G. A.; ZHANG, H. The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 334, n. 2, p. 185-195, 1995.

NANTES, C. I.; PESARINI, J. R.; MAURO, M. O.; MONREAL, A. C. D.; RAMIRES, A. D.; OLIVEIRA, R. J. Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of carrageenan fiber in cultured meristematic cells of *Allium cepa*. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 9523-9532, 2014. Disponível em: <https://geneticsmr.com/year2014/vol13-4/pdf/gmr4514.pdf>. Acesso em: 06 mar. 2023.

NASEER, Sumra et al. The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). **Clinical Phytoscience**, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2018. Disponível em: <https://clinphytosience.springeropen.com/articles/10.1186/s40816-018-0093-8>. Acesso em: 06 mar. 2023.

NOLDIN, V. F.; CECHINEL FILHO, V.; MONACHE, F. D.; BENASSI, J. C.; CHRISTMANN, I. L.; PEDROSA, R. C.; YUNES, R. A. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 331-334, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/DkPg9DbyjmwHsr4LRFp3y6s/?lang=pt>. Acesso em: 10 mar. 2023.

PALMIERI, M. J. et al. Cytogenotoxic effects of Spent Pot Liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa*. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 227, n. 5, p. 1-10, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-016-2809-z>. Acesso em: 11 mar. 2024.

PROFA, Orientadora; ELIANA, Dra.; VARANDA, Aparecida. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS CAMPUS ARARAQUARA. Estudo do potencial antimutagênico, mutagênico, estrogênico e antibacteriano de flavonoides. [S.l.: s.n.], 2011. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/104031/resende_fa_dr_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 15 set. 2023.

SILVA, E. A. J.; ESTEVAM, E. B. B.; SILVA, T. S.; NICOLELLA, H. D.; FURTADO, R. A.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, p. 697-702, 2018.

SILVEIRA, G. L.; LIMA, M. G. F.; REIS, G. B.; PALMIERI, M. J.; ANDRADE-VIEIRA, L. F. **Efeitos tóxicos de poluentes ambientais: investigação comparativa utilizando *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L.** **Chemosphere**, v. 178, p. 359-367, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653517304113>. Acesso em: 10 mar. 2023.

TEIXEIRA, R. de O. et al. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in in vitro and in vivo assays. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 26, n. 4, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qmb/a/xnF43BNhrqG536J46S7kRtk/?lang=en>. Acesso em: 10 mar. 2023.

TULER, Amélia C.; CARRIJO, Tatiana T.; PEIXOTO, Ariane L. Revisitando a flora de Macaé de Cima, Rio de Janeiro, Brasil: o gênero *Psidium* (Myrtaceae). **Rodriguésia**, v. 68, p. 1323-1331, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/rod/a/HsTC8Z5M4ghtcbsM6dK93Pp/?lang=pt#>. Acesso em: 10 mar. 2023.

VASCONCELOS, L. C.; DE SOUZA SANTOS, E.; DE OLIVEIRA BERNARDES, C.; DA SILVA FERREIRA, M. F.; FERREIRA, A.; TULER, A. C.; PRAÇA-FONTES, M. M. Phytochemical analysis and effect of the essential oil of *Psidium* L. species on the initial development and mitotic activity of plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 25, p. 26216-26228, 2019.

VASCONCELOS, Loren Cristina et al. Phytochemical analysis and effect of the essential oil of *Psidium* L. species on the initial development and mitotic activity of plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 25, p. 26216–26228, 8 set. 2019. Acesso em: 15 mar. 2023.

COMPLEXOS de inclusão de óleos essenciais de *Psidium* para aplicação larvicida, herbicida e citogenotóxica. **Seven Editora**. Disponível em: <https://sevenpublicacoes.com.br/index.php/editora/article/view/1764/2128>. Acesso em: 15 set. 2023.

VISTA do mutagenicidade e antimutagenicidade dos principais corantes para alimentos. *Puc-campinas.edu.br*. Disponível em: <https://periodicos.puc-campinas.edu.br/nutricao/article/view/8762/6177>. Acesso em: 15 set. 2023.

VUUREN, S. F. V.; NKWANYANA, M. N.; WETH, H. de. Antimicrobial evaluation of plants used for the treatment of diarrhea in a rural community in northern Maputaland, KwaZulu-Natal, South Africa. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 53, 2015. Disponível em: <https://www.readcube.com/articles/10.1186%2Fs12906-015-0570-2>. Acesso em: 10 mar. 2023.

Agradecimentos

À FAPES, CNPq, CAPES, LabCito e a UFES.