

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO**

MONICK BERBERT DE MORAIS

**POTENCIAL MUTAGÊNICO E ANTIMUTAGÊNICO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* ROSCOE (ZINGIBERACEAE)**

VITÓRIA
2019

MONICK BERBERT DE MORAIS

**POTENCIAL MUTAGÊNICO E ANTIMUTAGÊNICO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* ROSCOE (ZINGIBERACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento, na área de concentração de Biologia Evolutiva e Citogenética.

Orientador(a): Prof. Dra. Silvia Tamie Matsumoto.

VITÓRIA
2019


MONICK BERBERT DE MORAIS

**POTENCIAL MUTAGÊNICO E ANTIMUTAGÊNICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Zingiber officinale ROSCOE (ZINGIBERACEAE)**


Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento, linha de pesquisa Biologia Evolutiva e citogenética e área de concentração Mutagênese.

Aprovada em 11 de setembro de 2019.

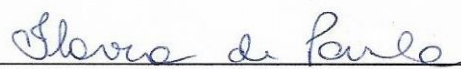
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr^a Silvia Tamie Matsumoto
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof. Dr^a. Milene Miranda Praça Fontes
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador(a) interno(a)



Prof. Dr^a. Flávia de Paula
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador(a) externo(a)

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

M827p Morais, Monick Berbert de, 1994-
Potencial mutagênico e antimutagênico do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) / Monick Berbert de Morais. - 2019.
75 f. : il.

Orientadora: Silvia Tamie Matsumoto.
Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Plantas Medicinais. 2. Gengibre. 3. Alelopatia. 4. Mutagenicidade. 5. Antimutagenicidade. 6. Metabólitos Secundários. I. Matsumoto, Silvia Tamie. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. III. Título.

CDU: 631.523

A minha mãe Rosani Berbert Ferraz de Morais
meu pai Abraão Lincoln de Morais
meu irmão Alexandre Berbert de Morais
aos meus primos Vinicius e Laís
aos meus amigos Yan, Wesley e Ana,
vos dedico por todo amor, dedicação, apoio e
confiança.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me abençoou com saúde e sabedoria e preparou cada detalhe para o desenvolvimento desta pesquisa, colocando sempre pessoas incríveis em meu caminho.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pela oportunidade a mim ofertada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) por todo o suporte financeiro.

Em especial a Silvia Tamie Matsumoto por todo o ensinamento, pela confiança, pelo suporte, pelo auxílio, pelos conselhos, pelas oportunidades, pelos cuidados, pelo carinho e pela paciência. Meu muito obrigada por ter me acolhido no GEMUT e por toda amizade construída durante esses anos.

À professora Milene Miranda Praça Fontes por todo apoio, confiança e estrutura.

A Sabrina Furtado, secretária do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, por toda atenção e disponibilidade.

Ao Abel Mól e aos laboratórios da Faculdade do Futuro por toda assistência.

Aos meus pais, Rosani e Abraão, por me apoiarem incondicionalmente em todos os momentos, por acreditarem no meu sonho e sempre me incentivando a seguir em frente.

Ao meu irmão Alexandre e aos meus primos Vinicius e Laís por viverem parte deste sonho comigo. Obrigada por toda amizade, confiança e especialmente pela companhia e apoio.

Aos meus avós Levi, Maria Helena, Nilta, Atalides e Elpídio (*in memória*), aos meus tios Wilson, Cidinha, Adeaci, Juca, Alfredo e Aparecida, aos meus primos Arthur, Yasmim, Rejane, Analdo, Reginaldo e Camila por toda compreensão, por todo suporte e confiança.

Aos meus amigos Yan, Ana, Bruno, Suellen, Stéphanie, João, Luara, Iago, Helder, Álefe, Luan, Camila, Andreza, Kayron e Guilherme, por toda torcida, por todos os almoços, por todas as conversas e energias positivas.

Não poderia deixar de agradecer especialmente a Luísa, ao Adriel, ao Wesley, ao Nathan, ao Ramon e ao Deyvson por toda ajuda e paciência que tiveram comigo.

As minhas colegas de apartamento e amigas Andressa e Eloá por todo o amparo, por todas as conversas, por todos os conselhos e momentos de lazer. Vocês foram de extrema importância para minha adaptação em Vitória.

Ao GEMUT, por me acolherem tão bem, pela amizade, pelos momentos de descontração, pelo carinho e ajuda em todo o desenvolvimento dos experimentos. Vocês são incríveis e agora fazem parte da minha vida, sou imensamente grata a Deus por ter conhecido vocês. Francielen, lasmini, Kalia, Enzo, Kristian, Lívia, Mariana, Marina e Edvar.

E em especial a lasmini e o Enzo por todas as noites e feriados no laboratório, a Francielen e a Kalia por todo ensinamento e auxílio nos experimentos. Se não fosse por vocês eu não teria chegado até aqui. Acima de tudo, muito obrigada pela amizade que cultivamos.

RESUMO

As plantas medicinais têm sido utilizadas desde a antiguidade como forma de prevenção, cura e tratamento de doenças. A partir destas plantas, são obtidos óleos essenciais, que podem apresentar propriedades de interesse médico e econômico para a população. O *Zingiber officinale*, cultivado em grande escala no Espírito Santo, é popularmente conhecido por suas propriedades antigripais, antifúngicas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antiulcerativas e até mesmo antitumorais. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a composição química do óleo essencial de *Z. officinale* Roscoe e avaliar a possível atividade mutagênica e antimutagênica de diferentes concentrações do óleo pelo teste de *Allium cepa*. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação das amostras, e a caracterização seguiu o protocolo de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foram avaliadas a fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade nas concentrações C1 - 3000, C2 - 1500, C3 - 750, C4 - 375, C5 - 187, C6 - 93, C7 - 46 e C8 - 23 mg/L (ppm). Logo, foi verificada também a atividade antimutagênica do óleo essencial de *Z. officinale* nas concentrações C5 - 187, C7 - 46 e C8 - 23 mg/L (ppm); foram realizados três experimentos: 1) pré-tratamento (no qual o tratamento é feito com o óleo essencial e, posteriormente, com o agente mutagênico); 2) tratamento simultâneo (no qual o organismo teste recebe o tratamento com o óleo essencial e o agente mutagênico simultaneamente); 3) pós-tratamento (neste caso é feito o tratamento com o agente mutagênico e, posteriormente, com o óleo essencial). A análise da atividade mutagênica revela que apenas as concentrações 3000, 750 e 375 mg/L apresentaram resultados significativos quanto à genotoxicidade, o que sugere que não houve fixação de danos. Já na análise antimutagênica foi observada alta taxa de redução de danos no tratamento simultâneo e no pós-tratamento, sugerindo, assim, ação de atividade desmutagênica e bioantimutagênica. Portanto os dados obtidos neste estudo indicam que o óleo essencial de *Z. officinale* pode apresentar atividade antimutagênica em baixas concentrações (187, 46 e 23 mg/L).

Palavras-chaves: Gengibre. Micronúcleo. Clastogênico. Aneugênico. Plantas Mediciniais. *A. cepa*. Bioantimutagênico. Desmutagênico.

ABSTRACT

The medicinal plants have been used since ancient times as a prevention, cure and diseases treatment. From these plants are obtained the essential oils, that may have properties of medical and economic interest of the population. The *Zingiber officinale*, cultivated on large scale in Espírito Santo, is popularly known for its properties anti-flu, antifungal, anti-inflammatory, antiulceratives and even anti-tumor. This study aimed characterizes the chemical composition of essential oil of *Z. officinale* Roscoe and evaluate possible mutagenic and antimutagenic activity of different oil concentrations by the *Allium cepa* test. The essential oil was obtained by hydrodistillation of samples, and the characterization followed the protocol of gas chromatography coupled to mass spectrometry. Were evaluated the phytotoxicity, cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity at concentrations C1 – 3000, C2 – 1500, C3 – 750, C4 – 375, C5 – 187, C6 – 93, C7 – 46 and C8 – 23 mg/L (ppm). It was also verified antimutagenic activity of essential oil of *Z. officinale* at concentrations C5 – 187, C7 – 46, C8 – 23 mg/L (ppm); three experiments were performed: 1) pre-treatment (which the treatment is with essential oil, and later with the mutagenic agent); 2) simultaneous treatment (which the test organism receives the treatment with essential oil and mutagenic agent simultaneously); 3) post-treatment (in this case the treatment is made with mutagenic agent, and later with the essential oil). Analysis of mutagenic activity reveals that only concentrations 3000, 750 and 375 mg/L showed significant results regarding genotoxicity, suggesting no damage fixation. In the antimutagenic analysis, it was observed high rate of reduction of damage in the simultaneous treatment and the post-treatment, suggesting action of desmutagenic and bioantimutagenic activity. Therefore, the data obtained in this study indicate that the essential oil of *Z. officinale* may have antimutagenic activity in low concentrations (187, 46 and 23 mg/L).

Keywords: Ginger. Micronucleus. Clastogenic. Aneugenic. Medicinal plants. *A. cepa*. Bioantimutagenic. Desmutagenic.

LISTA DE ABREVIações

AC – Alterações Cromossômicas

AN – Alterações Nucleares

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CG-EM – Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas

CN – Controle Negativo

CP – Controle Positivo

CR – Crescimento Radicular

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DMSO – Dimetilsulfóxido

EMA – Agência Europeia de Medicamentos

FDA – Food and Drug Administration

H₂O₂ – Peróxido de Hidrogênio

HCl – Ácido Clorídrico

He – Hélio

HPV – Vírus do Papiloma Humano

IM – Índice Mitótico

IVG – Índice de Velocidade de Germinação

MN - Micronúcleo

OMS – Organização Mundial da Saúde

pH – Potencial Hidrogeniônico

PNPMF – Política Nacional de Plantas Medicinais de Fitoterápicos

RENISUS – Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde

SUS – Sistema Único de Saúde

UFES – Universidade Federal do Espírito Santo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estrutura química de alguns compostos encontrados no óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	24
Tabela 2 – Constituintes identificados (>5%) do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	40
Tabela 3 – Alterações no ciclo celular em células meristemáticas de <i>A. cepa</i> expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	46
Tabela 4 – Porcentagem de redução de micronúcleo (MN) + quebra cromossômica em células de <i>A. cepa</i> submetidas a diferentes tratamentos com diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	19
Figura 2 – Estrutura Química do Isopreno	22
Figura 3 – Esquema de formação de micronúcleo causada por evento clastogênico (A) e aneugênico (B)	29
Figura 4 – Delineamento experimental do modelo contínuo por período de avaliação da germinação.....	36
Figura 5 – Delineamento experimental do modelo descontínuo utilizado no pré-tratamento	38
Figura 6 – Delineamento experimental do modelo descontínuo utilizado no tratamento simultâneo	38
Figura 7 – Delineamento experimental do modelo descontínuo utilizado no pós-tratamento	38
Figura 8 – Fórmula de Redução de Danos	39
Figura 9 – Porcentagem de germinação de raízes de <i>A. cepa</i> expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	41
Figura 10 – Índice de velocidade de germinação (IVG) de raízes de <i>A. cepa</i> expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	42
Figura 11 – Crescimento radicular (CR) de raízes de <i>A. cepa</i> expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	43
Figura 12 – Comparação entre o crescimento radicular das raízes de <i>A. cepa</i> expostas as diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	43
Figura 13 – Células meristemáticas de <i>A. cepa</i> expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. A utilização de plantas medicinais	17
2.2. <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	18
2.3. Óleo essencial.....	20
2.4. Composição química do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	21
2.5. Avaliação das plantas medicinais para o mercado	25
2.6. Potencial Alelopático e Fitotoxicidade	26
2.7. Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade.....	27
2.8. Antigenotoxicidade e Antimutagenicidade	30
2.9. <i>Allium cepa</i> como bioindicador.....	31
3. OBJETIVOS	33
3.1. Objetivo Geral	33
3.2. Objetivos Específicos.....	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1. Material Vegetal	34
4.2. Extração do óleo essencial	34
4.3. Análise da composição química do óleo essencial	34
4.4. Bioensaios com <i>Allium cepa</i>	35
4.5. Análise de Fitotoxicidade	36
4.6. Análise de Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade	36
4.7. Análise de Antimutagenicidade.....	37
4.8. Análise Estatística.....	39
5. RESULTADOS	40
5.1. Rendimento do óleo essencial	40

5.2.	Análise da composição química do óleo essencial	40
5.3.	Fitotoxicidade em <i>Allium cepa</i>	40
5.4.	Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade pelo sistema <i>Allium cepa</i>	44
5.5.	Antimutagenicidade em <i>Allium cepa</i>	47
6.	DISCUSSÃO	49
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

1. INTRODUÇÃO

Uma das mais antigas formas de prática medicinal na humanidade é o uso de plantas com finalidades fitoterápicas, para prevenção, tratamento e cura de doenças (SILVA et al., 2018; RAMALHO et al., 2018). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 60 - 80% da população mundial vinda de países em desenvolvimento, devido à falta de condições financeiras ou falta de acesso à medicina tradicional, dependem especialmente de plantas medicinais para cuidar de sua saúde, com isso há um aumento de estudos toxicogenéticos em plantas para avaliar suas qualidades (SOARES et al., 2006; BAGATINI et al., 2007; CORREA et al., 2018; SILVA et al., 2018).

No Brasil, o uso de plantas medicinais é uma prática antiga que recebe várias influências das culturas indígena, africana e europeia. Em 2009, foi elaborada pelo Ministério da Saúde a RENISUS (Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde), com a finalidade de direcionar estudos e pesquisas que auxiliem o ajuste da relação dos fitoterápicos disponíveis para uso com a máxima segurança e eficiência no combate às doenças. O RENISUS conta com 71 espécies, dentre as quais encontra-se o *Zingiber officinale*, especiaria utilizada e cultivada em vários municípios brasileiros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; OLIVEIRA, 2016).

O *Zingiber officinale* Roscoe, popularmente conhecido como gengibre, é muito utilizado para fins medicinais e como especiaria culinária. Possui mais de 115 constituintes químicos (BODE, 2011), e em sua composição destacam-se os carboidratos e lipídios, substâncias não voláteis; e também os óleos essenciais, substâncias voláteis que vêm sendo amplamente estudados graças a propriedades como efeito antipirético e analgésicos (SUEKAWA et al., 1984; FRANCO, 2018), antibacteriano (PARK et al., 2008; FRANCO, 2018), atividades imunomoduladoras (CHARI et al, 2013; VIEIRA et al., 2014) e, principalmente, antioxidante (MASUDA et al., 2004, EVERTON et al., 2019).

Várias substâncias utilizadas na medicina, como fármacos, podem induzir mutações genéticas, portanto, agências reguladoras, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e Food and Drug Administration (FDA) exigem que todo novo medicamento seja testado quanto a seu potencial genotóxico e mutagênico antes de passar para a fase de pesquisa clínica para ser avaliado visando possível lançamento no mercado

(ARALDI et al., 2015). Logo, faz-se necessária a avaliação toxicogenética e antimutagênica de *Zingiber officinale*, tendo em vista sua importância econômica e medicinal, bem como a caracterização da composição química de seu óleo, a partir da coleta de rizomas da região Sul do Espírito Santo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A utilização de Plantas Medicinais

O uso de plantas com fins medicinais é uma prática mais antiga para tratamento, cura ou prevenção. A utilização das plantas era transmitida por gerações por meio do conhecimento popular (BRUNING, et al., 2012).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pode ser considerada planta medicinal toda aquela que possuir substâncias capazes de apresentar algum tipo de ação terapêutica (BRASIL, 2010).

Com a criação da PNPMF (Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos) pelo Decreto da Presidência da República nº. 5.813, de 22 de junho de 2006, 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, conseqüentemente, 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).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial utilizam práticas tradicionais na atenção primária à saúde; desse total, 85% utilizam plantas medicinais provenientes da medicina popular (ROSA et al., 2011; CARMO et al., 2016) e cerca de 40% dos medicamentos que são utilizados na medicina moderna, baseada na ciência experimental, possuem origem natural, sendo que por volta de 25% deles possuem origem vegetal, 12% de microrganismos e 3% de origem animal (YUNES, 2001; LIRA, 2007; OSLER, 2016).

O Brasil possui extensa diversidade de espécies vegetais e ampla diversidade cultural, salientada pelos costumes dos povos nativos e colonizadores. A partir desses costumes, é necessário o desenvolvimento de pesquisas científicas que permitam o uso seguro das espécies vegetais e comprovam suas propriedades medicinais (BRUNING et al., 2012; CARNEIRO et al., 2014; SILVA et al., 2018).

O RENISUS foi elaborado em 2009 e divulgado pelo PNPMF, no qual foram listadas as plantas medicinais que apresentam potenciais para originar produtos de interesse ao SUS (Sistema Único de Saúde). A lista tem a finalidade de direcionar

estudos acadêmicos e foi elaborada a partir do levantamento das plantas medicinais mais utilizadas de acordo com a sabedoria popular; o SUS ainda pretende ampliar a lista para que se possa combater as doenças mais comuns dos brasileiros com fitoterapia (MARMITT et al., 2015). A lista divulgada pelo PNPMF também deu prioridade a plantas de fácil acesso e que podem ser cultivadas em diversas regiões do Brasil. Dentre elas a *Bauhinia fortificata*, conhecida como pata-de-vaca, utilizada como insulina natural nos anos 1980 e a *Matricaria recutita*, a camomila, empregada como calmante e sedativo, por exemplo (FRANCO, 2018).

Hoje, é possível encontrar fitoterápicos em farmácias e lojas de produtos naturais. Seu uso está cada vez mais estendido graças à cultura oriental e às propagandas que prometem benefícios seguros e de forma natural, todavia para que o uso dos compostos naturais seja realmente seguro são necessários testes toxicológicos para comprovação da eficácia e segurança (JUNIOR, et al., 2005; FIGUEIREDO, et al., 2014; NASCIMENTO et al., 2018).

2.2. *Zingiber officinale* Roscoe

O *Zingiber officinale*, pertencente à família Zingiberaceae, englobando mais de 1200 espécies e conhecido popularmente como gengibre, foi descrito em 1807, pelo botânico inglês William Roscoe (1753-1813) (figura1). O gênero *Zingiber* possui mais de 85 espécies, muito utilizado no oriente a mais de dois mil anos (SOUSA et al., 2013).

O gengibre é uma especiaria rizomática, nativa da Ásia, que pode atingir até 1,50m de altura. É uma espécie monocotiledônea, herbácea, perene, com raízes adventícias, possui pseudocaule ereto e pedúnculos com flores hermafroditas. É bem adaptada aos climas tropicais e subtropicais e se desenvolve em terrenos arenosos, bem drenados, leves e férteis (CARDOSO, et al., 2019).

Figura 1. *Zingiber officinale* Roscoe.



Fonte: Google, 2018.

De acordo com o Censo Agropecuário de 2017, o Brasil produziu aproximadamente 23.629 toneladas de gengibre, sendo que 21.331 dessas toneladas foram produzidas na Região Sudeste, sendo o Espírito Santo responsável por 17.708 toneladas; as cidades de Domingos Martins, Santa Leopoldina e Santa Maria de Jetibá se destacam nessa produção (IBGE/SIDRA, 2017).

Sua colheita pode ser realizada de 10 a 12 meses após o plantio, quando as hastes e folhas começam a apresentar coloração amarelada (EMBRAPA, 2001). A parte consumida é o rizoma, de forma fresca, seca, em pó, cristalizada ou como chá. Na culinária, é empregado como aromatizante e condimento, concedendo sabor e características refrescantes às receitas. Como planta medicinal, o gengibre é considerado uma das mais antigas e populares do mundo, sendo utilizado para aliviar sintomas que vão desde inflamações até desconfortos intestinais, indicado em casos de cólicas, dores de garganta, resfriados, náuseas e enjoos, gripe, asma, bronquite, rouquidão, reumatismo (MAJOLO et al., 2014; CUTRIM et al., 2019), graças a sua grande variedade de atividades biológicas, como: anti-inflamatória, antifúngica, antiviral, antibacteriana (FRANCO, 2018), antiulcerativa, antitumoral (PFEIFFER et al., 2006; DIEMER, 2016; CUTRIM et al., 2019); ele ainda possui grande atividade analgésica e, principalmente, atividade antioxidante (MASUDA et al., 2004, EVERTON et al., 2019).

Cada vez mais se dá importância aos antioxidantes, graças a seu potencial protetor contra danos citotóxicos. Por sua vez, os danos citotóxicos podem ocasionar ou acelerar o aparecimento de algumas doenças graças à ação de

espécies químicas conhecidas como radicais livres, que são formados pelas oxidações do organismo (COSTA et al., 2014).

São considerados danos oxidativos quando as membranas das células são danificadas pelo avanço da degeneração, o que pode ser diretamente relacionado a vários tipos de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e vários tipos de cânceres, já que o estresse oxidativo possui a capacidade de induzir danos ao DNA, exaltando os processos de carcinogênese e mutagênese. Parte dessa degeneração é inevitável, pois é causada pelos radicais livres de oxigênio. No entanto, a degeneração também pode ser influenciada por uma série de fatores externos, como consumo de alimentos demasiadamente processados, quimicamente alterados, tabagismo e exposição a poluentes. Antioxidantes naturais podem apresentar atividades chamadas antimutagênicas e/ou antigenotóxicas, reduzindo a ação de agentes capazes de induzir danos ao material genético (SILVA et al., 2011; VIDAL et al., 2018).

Os antioxidantes possuem a capacidade de doar radicais de hidrogênio para neutralizar os radicais livres existentes retardando o efeito da oxidação (LEÃO et al., 2017).

Atualmente, devido à busca por uma vida mais saudável, os antioxidantes naturais têm sido procurados com grande frequência, já que podem apresentar melhores propriedades antioxidantes que os sintetizados, além de serem mais seguros para consumo, visto que pouco a pouco os sintéticos têm sido retirados do mercado por demonstrarem riscos carcinogênicos (TOHMA et al., 2017; AQUINO et al., 2017).

Visto que o *Z. officinale* possui componentes que apresentam propriedades antioxidantes, ele pode ser apontado como uma fonte natural, uma vez que seus componentes podem atuar como agentes redutores e doadores de hidrogênio afim de atrasar os efeitos da oxidação (AQUINO et al., 2017).

2.3. Óleo Essencial

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias lipossolúveis, compostos aromáticos voláteis, como terpenos, que são originários dos metabolitos secundários de algumas plantas. Há três classificações para os metabolitos secundários: os compostos fenólicos, que são constituídos de pelo menos uma

hidroxila funcional ligada a um anel aromático; os compostos nitrogenados, que possuem nitrogênios em sua composição e são sintetizados a partir de aminoácidos; e os terpenos, que apresentam sua constituição básica formada por carbono e hidrogênio (TAIZ E ZEIGER, 2013). Como o metabolismo secundário responde aos estímulos ambientais, é possível que haja diferenças na composição química de óleos essenciais da mesma espécie quando proveniente de regiões diferentes, pois as regiões podem apresentar mudanças de natureza biológica, física e químicas, pH, temperatura, umidade, fertilidade do solo, incidência e radiação solar, vento, entre outros (ANDRADE et al., 2010; CUTRIM et al., 2019).

Óleos essenciais englobam substâncias voláteis lipofílicas geralmente caracterizadas por aromas, líquidos (ROSA, 2011), e podem ser sintetizados em todos os órgãos das plantas (SIANI et al., 2000). Podem ser instáveis em presença de luz, calor, umidade, substâncias oxidantes, redutoras, pH extremo ou até mesmo metais (CUTRIM et al., 2019). De forma geral, os principais constituintes dos óleos essenciais são os hidrocarbonetos, fenóis, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, óxidos, peróxidos e furanos. A composição dos óleos pode ser variável nas partes da planta de onde é extraído; o momento do desenvolvimento que se encontra a planta e o método de extração podem influenciar na proporção dos constituintes (CUTRIM et al., 2019). Normalmente, os óleos essenciais extraídos de plantas apresentam grandes possibilidades de uso em indústrias alimentícias, cosmética e farmacêutica, como o óleo essencial de laranja, que é utilizado na produção de perfumes, sabonetes, materiais de limpeza, balas e sucos (BIZZO, 2009).

Segundo recomendações da European Pharmacopeia (2002), os óleos essenciais do gengibre devem ser obtidos por meio do processo de hidrodestilação, pois são compostos voláteis. Também é recomendado que sejam obtidos de gengibre com casca, pois na ausência dela o óleo essencial perde muitos compostos.

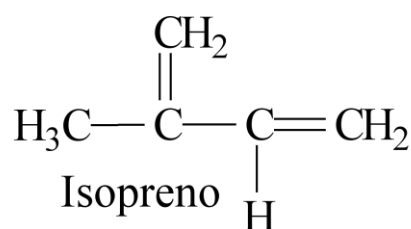
2.4. Composição química do óleo essencial de *Zingiber officinale*

Em seu ambiente natural, os óleos essenciais estão relacionados com a sobrevivência do organismo vegetal, exercendo importante papel na defesa contra alguns insetos, fungos, vírus, bactérias, pássaros, morcegos e também na atração de alguns agentes polinizadores (BAKKALI et al., 2008; CUTRIM et al., 2019).

Os componentes dos óleos essenciais possuem efeitos terapêuticos, auxiliando no tratamento de doenças já existentes, mas também podem apresentar efeitos toxicológicos, manifestando-se de forma nociva ao organismo, porém os efeitos que podem ser expressos pelos óleos essenciais dependem tanto de seus componentes, quanto da dosagem utilizada (GROSSMAN, 2005; SILVA, 2018).

A composição química dos óleos essenciais pode ser afetada pelo local de origem do material vegetal. No óleo de gengibre proveniente da Região Sul do Espírito Santo, podemos encontrar alguns terpenóides, ou terpenos, hidrocarbonetos cujas estruturas biossintéticas derivam-se de unidades do isopreno (figura 2), contendo cinco carbonos cada (PASSOS, 2013).

Figura 2. Estrutura química do Isopreno.



Fonte: Google, 2018.

As diferentes classes de terpenos são: monoterpenos (terpenos com 10 unidades de carbono), sesquiterpenos (terpenos com 15 unidades de carbono), diterpenos (terpenos com 20 unidades de carbono) (PASSOS, 2013).

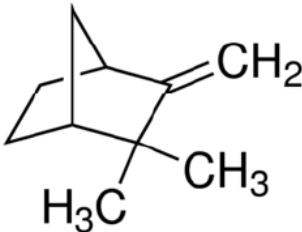
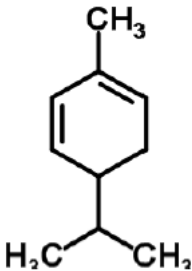
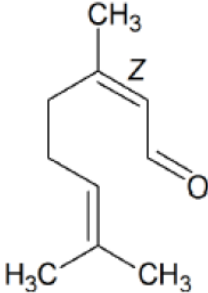
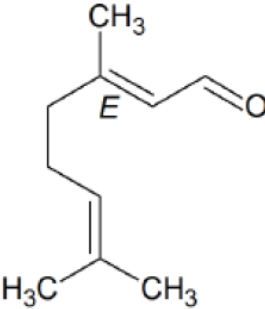
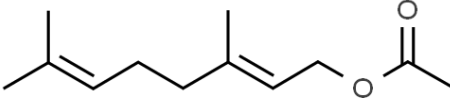
Na medicina popular podemos encontrar relatos de plantas ricas em terpenos que são utilizadas como analgésicas, ansiolíticas, anticonvulsivantes, sedativas, tranquilizantes (PASSOS et al., 2009; PASSOS, 2013).

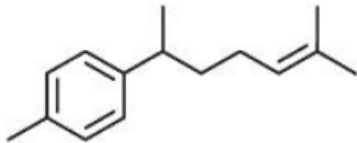
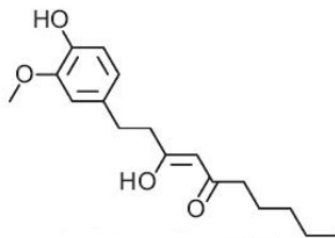
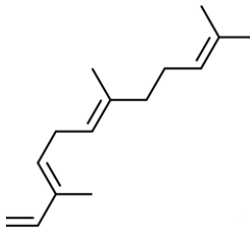
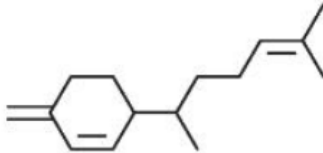
O canfeno ((1R)-2,2-Dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptane), o citral ((2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal) (mistura isomérica entre neral e geranial e resultado da conversão do acetato de geranila) e o β-felandreno ((3S)-3-Isopropyl-6-methylenecyclohexene) (tabela1), presentes no óleo essencial do gengibre, são monoterpenos naturais, de baixo custo, renováveis e abundantes. São as substâncias responsáveis pela capacidade de combater as dores de garganta, rouquidão, tosse, gripes, resfriados, enjoo e náuseas. Os derivados do canfeno podem apresentar certa atividade citotóxica contra células de melanoma humano

(SOARES, 2008; PASSOS, 2013). De acordo com Kapur et al. (2016), o citral (mistura isomérica de neral e geranial e resultado da conversão do acetato de geranila) possui a capacidade de inibir o crescimento de tumores de mama *in vivo* por meio de mecanismo não citotóxico, com o aumento dos radicais de oxigênio intracelular, responsáveis por provocar estresse oxidativo, ativando o gene que predispõe o encerramento do ciclo celular nas fases S e G1, ocasionando a apoptose das células que possuem danos genéticos. O citral também apresenta efeitos positivos contra outros tipos de cânceres, como na indução da apoptose das células leucêmicas (MARTINO et al., 2011; TISSERAND e YOUNG, 2014). O β -felandreno, por sua vez, vem apresentando indícios de boa atividade anti-inflamatória e indução de morte celular (SIQUEIRA et al., 2016).

Dentre os sesquiterpenos, o α -zingibereno ((5R)-2-Methyl-5-[(2S)-6-methyl-5-hepten-2-yl]-1,3-cyclohexadiene) é responsável pelo cheiro característico e pode contribuir com até 30% do óleo essencial do gengibre. Muito estudado no melhoramento genético, o α -zingibereno é capaz de conferir resistência à artrópodes-praga e a ácaros (FREITAS et al., 2000). O α -curcumeno (1-Methyl-4-(6-methyl-5-hepten-2-yl)benzene) confere ao gengibre a capacidade anti-inflamatória, além de melhorar a função imunológica (CHAVES et al., 2012). . Todavia, α -zingibereno e α -curcumeno também vêm sendo estudados pela capacidade de indução do processo apoptótico para eliminação de células cancerígenas (LEE, 2016). O α -farneseno ((3E,6E)-3,7,11-Trimethyl-1,3,6,10-dodecatetraene) é estudado por seus efeitos antioxidantes e antígenotóxicos, expressando potencial terapêutico para distúrbios neurodegenerativos (TURKEZ et al., 2013). E o α -sesquifelandreno (3-Methylene-6-(6-methyl-5-hepten-2-yl)cyclohexene) contribui na ativação de fatores apoptóticos, dificultando a sobrevivência de células cancerígenas (TYAGI et al., 2015).

Tabela 1. Estrutura química de alguns compostos encontrados no óleo essencial de *Zingiber officinale*.

Monoterpenos	Fórmula Estrutural
<p>Canfeno (1R)-2,2-Dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptane</p>	
<p>β-felandreno (3S)-3-Isopropyl-6-methylenecyclohexene</p>	
<p>Neral (2Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal</p>	
<p>Geranial (2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal</p>	
<p>Acetato de Geranila (2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl acetate</p>	

Sesquiterpenos	Fórmula Estrutural
<p>α-curcumeno 1-Methyl-4-(6-methyl-5-hepten-2-yl)benzene</p>	
<p>α-zingibereno (5R)-2-Methyl-5-[(2S)-6-methyl-5-hepten-2-yl]-1,3-cyclohexadiene</p>	
<p>α-farneseno (3E,6E)-3,7,11-Trimethyl-1,3,6,10-dodecatetraene</p>	
<p>β-sesquifelandreno 3-Methylene-6-(6-methyl-5-hepten-2-yl)cyclohexene</p>	

Fonte: <http://clubedaquimica.com/index.php/2018/04/14/gengibre-e-sua-quimica/>
https://www.dovepress.com/cr_data/article_fulltext/s74000/74669/img/DDDT-74669-F01.png Acesso em 18 mar. 2019.

2.5. Avaliação das plantas medicinais para o mercado

Nos países em desenvolvimento, o consumo de produtos provenientes de plantas medicinais aumenta a cada dia, porém a toxicidade de plantas medicinais é um problema de saúde pública, pois existe pouco conhecimento dos efeitos adversos e tóxicos, como a interação com outras drogas (JUNIOR, et al., 2005; DUARTE et al., 2018).

Algumas substâncias podem ser iminentemente agressivas, apresentando efeitos perigosos. Quando isolada, determinada substância provinda de plantas medicinais pode manifestar atividade citotóxica e/ou genotóxica, podendo até mesmo estar relacionada com a ocorrência de tumores (AMES, 1983; VARANDA, 2006; SILVA, 2018). A toxicidade avalia o potencial tóxico de determinada

substância e se faz de grande importância na área da validação dos fitoterápicos (SILVA, 2018). A atividade citotóxica pode apresentar efeitos letais e a atividade genotóxica pode levar a alterações no material genético causadoras de certos tipos de doenças (BOCHINIE, 2017; FIGUEIRA, 2017).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o órgão responsável pela regulamentação dos fitoterápicos, estabelece, por meio da Resolução nº. 90 de 2004, que todos os medicamentos fitoterápicos devem ser avaliados quanto a sua toxicidade (YUNES, 2014).

Os testes toxicológicos são de grande importância, porém devem ser simples, sensíveis e reprodutíveis. Muitos bioensaios usam organismos vegetais; os ensaios bioquímicos podem envolver desde enzimas e receptores, a cultura de células animais ou humanas (MACIEL et al., 2002; SILVA et al., 2018). Os bioensaios vegetais avaliam o nível de toxicidade de agentes em diferentes concentrações pelas análises da porcentagem de germinação, crescimento radicular, tempo de germinação (com avaliações diárias), índice da velocidade de germinação (SIMÕES et al., 2013; FORMIGHEIRI et al., 2018).

2.6. Potencial Alelopático e Fitotoxicidade

Algumas espécies vegetais possuem a capacidade de inibir ou estimular o desenvolvimento de outras espécies por meio da liberação de substâncias químicas no ambiente, substâncias essas que são provenientes da ação do metabolismo secundário das plantas (CARVALHO et al., 2016). Quando liberadas no ambiente essas substâncias causam alterações no metabolismo e na morfologia de espécies vizinhas (FIORENZA et al., 2016).

Por serem derivadas do metabolismo secundário das plantas, as substâncias alelopáticas podem estar presentes em quantidades diferentes em cada vegetal, pois dependem do órgão da planta em que foram produzidas, podendo também ser tóxicas para outras espécies vegetais durante diferentes períodos de desenvolvimento (BARBOSA et al., 2018).

O potencial alelopático dessas substâncias desperta grande interesse nos estudos e desenvolvimento de produtos que podem ser utilizados como bioherbicidas, reduzindo os prejuízos causados por ervas daninhas em ambientes agrícolas (MACIEL et al., 2017).

A fitotoxicidade é a ação tóxica que determinada substância pode provocar nas plantas. Ela é avaliada da germinação ao crescimento radicular e aéreo do vegetal, pois a avaliação fitotóxica permite determinar se a substância em estudo é capaz de inibir a germinação das sementes, o desenvolvimento das plantas e o crescimento das raízes, que por sua vez, tem o primeiro contato com a substância testada e, conseqüentemente, são as primeiras a apresentar os efeitos causados (TRAUTMANN et al., 1998; ASLAM et al., 2007; ARAGÃO, 2017; JORGE, 2018).

De acordo com Trautmann e Krasny (1987), quando o grau de germinação é maior que 80% não há inibição no crescimento da planta, porém abaixo 80% a substância começa a apresentar níveis de inibição. Batista e Batista (2007) classificam o grau de germinação como sendo acima de 85% não tóxico, de 70 a 80% moderadamente tóxico, de 50 a 70% tóxico, de 30 a 50% muito tóxico e abaixo de 30% como extremamente tóxico.

2.7. Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade

A citotoxicidade é a capacidade de um agente em produzir efeitos letais ou subletais, avaliando as propriedades nocivas de uma substância em relação às células (GALTER, 2016; BOCHNIE et al., 2017).

Os ensaios de citotoxicidade são essenciais na caracterização de substâncias que visam algum tipo de aplicação médica, pois o ensaio propõe-se avaliar se a substância em questão apresenta efeitos destrutivos às células, uma vez que a citotoxicidade está ligada à capacidade intrínseca de determinada substância em promover algum tipo de alteração metabólica celular (ARAGÃO, 2017; PONTES, 2018).

A genotoxicidade é a capacidade que algumas substâncias ou agentes possuem de induzir alterações que podem ser responsáveis pelo surgimento de alguns tipos de cânceres ou doenças hereditárias no material genético dos organismos expostos. Os agentes genotóxicos interagem com o material genético, podendo gerar alterações na molécula de DNA que podem ou não ser reparadas; quando não reparadas, são capazes de formar aductos e alterações oxidativas. Majoritariamente, o dano causado pelo agente genotóxico é reparado pelo próprio organismo ou ocorre a eliminação da célula danificada (KRÜGER, 2009; FIGUEIRA, 2017).

Portanto, a genotoxicidade possibilita avaliar efeitos de exposição do material genético a um determinado agente que resulta em manifestações de alterações cromossômicas as quais possibilitam reparo, sendo elas: troca entre cromátides irmãs - quando há troca de segmentos entre os filamentos eucarióticos replicados na mitose; formação de adutos de DNA - onde compostos carcinogênicos se ligam ao DNA; síntese de DNA não programada - quando a síntese do DNA ocorre independente da duplicação cromossômica; lesões no DNA - quando danos que induzem desvios em relação a conformação normal do DNA e que se não reparados podem resultar em mutações (ALMEIDA, 2013; SANTOS, 2015; FIGUEIRA, 2017).

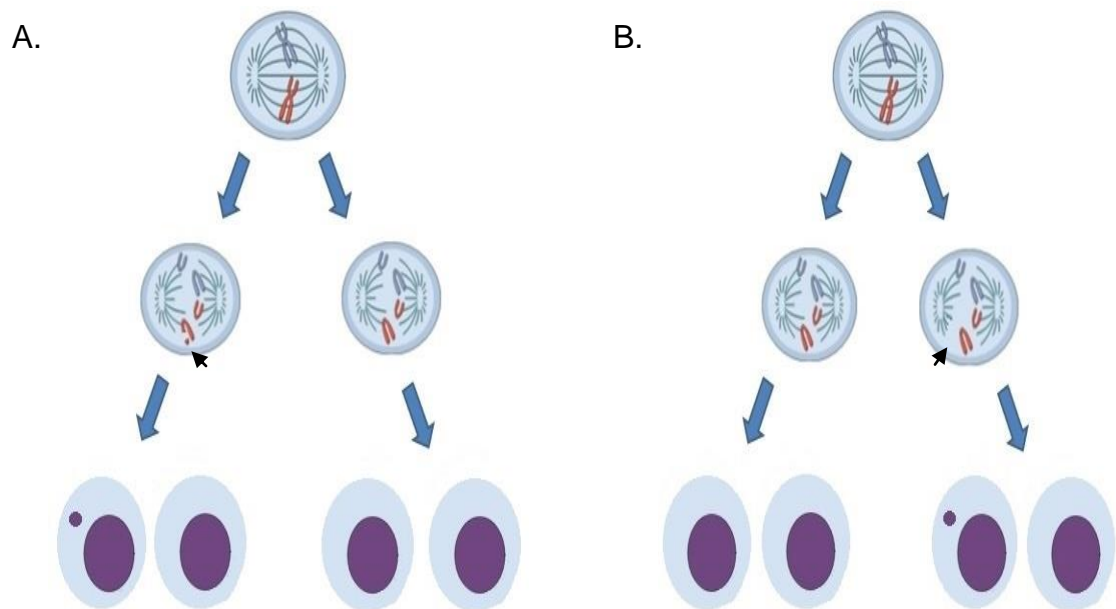
Eventualmente, se a lesão genotóxica for fixada, concedendo alterações hereditárias - também chamadas de mutações, capazes de perenizar nas células filhas durante a replicação - o agente apresenta potencial mutagênico (KRÜGER, 2009; COSTA et al., 2014).

A mutagenicidade é a capacidade que um agente pode apresentar de aumentar ou induzir a frequência de mutações em um organismo. Assim, a mutagenicidade verifica se o agente pode causar alteração nuclear permanente no conteúdo ou estrutura do material genético, sendo elas: substituição de pares de bases, alterações na matriz de leitura - ocorrendo por adição ou deleção de nucleotídeos - alterações no número de cromossomos e alterações na estrutura dos cromossomos. Ainda que ocorram mutações espontâneas, a maioria é instigada por agentes físicos, químicos e biológicos, aos quais podemos ser expostos constantemente (COSTA et al., 2014; FIGUEIRA, 2017).

Uma das formas de avaliar a mutagenicidade de substâncias é pela frequência de micronúcleos (MN), massas cromossômicas semelhantes ao núcleo principal e que se expressam nas células-filhas como consequência de danos das células parentais que não foram reparados ou que foram reparados erroneamente. Os micronúcleos, formados como consequências de danos genéticos que não foram reparados, são corpúsculos de cromatina parecidos com um pequeno núcleo, ficando separados do núcleo principal. São originados por fragmentos de cromossomos acêntricos (que não possuem centrômero) quando há a ação clastogênica (quebra cromossômica), ou cromossomos inteiros que devido a danos no centrômero ou defeitos na citocinese se atrasam durante a migração para os polos na anáfase, indicando efeitos anugênicos (perda cromossômica) (COSTA et al., 2014; FIGUEIRA, 2017).

As clastogêneses ocorrem quando o agente mutagênico atua gerando alterações no aparelho mitótico, o que pode ocasionar pontes anafásicas, que por sua vez também estão relacionadas às quebras cromossômicas e à formação de micronúcleos (BIANCHI et al., 2015; OLIVEIRA, 2016). As aneugêneses são resultado de alterações estruturais que ocorrem nos mecanismos de formação do fuso mitótico, podendo ocasionar atrasos e perdas cromossômicas, relacionados à formação de micronúcleos (figura 3) (BIAZI et al., 2018).

Figura 3. Esquema de formação de micronúcleo causada por evento clastogênico (A) e aneugênico (B).



Fonte: Mind the graph com alterações, 2019.

Outra forma pela qual se pode avaliar a mutagenicidade é a presença de brotos nucleares, que podem ser gerados por meio da supressão de DNA extracromossômico na fase da interfase. Os brotos nucleares apresentam sua localização na periferia celular, podem ser facilmente identificados durante a análise mutagênica e podem ser frequentes em processos oncogênicos, nos quais há predisposição genética associada à incidência de câncer (OLIVEIRA, 2016).

2.8. Antigenotoxicidade e Antimutagenicidade

Um agente físico, químico ou biológico que altera o material genético pode ser classificado como mutágeno, induzindo aumento de mutações genéticas (BIAZI et al., 2018). Todavia, quando o agente possui capacidade de redução das taxas de mutação ou é capaz de reverter danos genotóxicos, tal agente é chamado de anti-mutágeno. Sabe-se que as mutações estão envolvidas tanto com processos carcinogênicos quanto com outros tipos de doenças, como cardíacas e degenerativas. Portanto, dá-se grande importância aos estudos dos potenciais antigenotóxicos e antimutagênicos com o intuito de promover a saúde por meio das informações sobre as plantas medicinais utilizadas (LEME et al., 2008; BIAZI et al., 2018).

Uma das maneiras mais favoráveis ao controle de doenças é a prevenção, que está diretamente ligada a hábitos de vida saudáveis, como o consumo de frutas e vegetais, os quais podem contribuir com a diminuição da incidência de doenças como o câncer. A prevenção atribuída ao consumo de frutas e vegetais é conferida principalmente às ações antigenotóxicas e antimutagênicas contidas nesses alimentos (VIEIRA et al., 2015; CARNEIRO, 2016).

A antigenotoxicidade é a capacidade de inibir a ocorrência de danos espontâneos ou induzidos antes que sejam fixados. Os testes de antigenotoxicidade são usados para caracterizar os efeitos de um determinado agente que em contato com o material genético pode ocasionar reparos em DNA com alterações cromossômicas (CARITÁ, 2010; VALENTE et al., 2016).

A antimutagenicidade é o processo pelo qual há redução da frequência da mutação espontânea ou induzida. Os testes de antimutagenicidade verificam se o agente é capaz de reduzir a taxa de mutações, assim, os agentes antimutagênicos atuam como protetores da molécula de DNA, prevenindo os organismos contra a indução de danos genéticos e de doenças relacionadas a alterações promovidas nas células (CARITÁ, 2010; GALTER, 2016, GHELLER et al., 2017).

Os agentes antimutagênicos podem ser classificados em duas classes: desmutagênicos, quando a substância possui a capacidade de reduzir os efeitos genotóxicos do agente, por meio do bloqueio da ação dos agentes indutores de danos; e os bioantimutagênicos, que agem depois da ocorrência do dano, atuando como moduladores do reparo e da replicação do DNA. Na ação de desmutagênese,

que ocorre de forma extracelular, o agente atua como protetor, expressando sua capacidade de inativar um agente mutagênico por meio da atuação direta sobre a substância indutora de mutações genéticas; assim inativa de forma química, física ou enzimática, bloqueando ou modificando mutágenos antes que ocorra a ligação com o DNA. A inativação química ou física pode ocorrer por meio da ligação direta com o mutágeno, já a inativação enzimática ocorre impedindo a ativação do metabolismo de mutagênicos. Nas inativações químicas ou físicas pode ocorrer também o sequestro de radicais livres, impedindo sua ligação ao DNA, o que dá ao agente a capacidade antioxidante. Na ação bioantimutagênica que ocorre no nível celular, os agentes são capazes de modular o reparo e a replicação do DNA, inibindo os possíveis erros do sistema de reparo ou estimulando o reparo livre de erros, participando da supressão das mutações genéticas após a sucessão dos danos ao DNA, o que conseqüentemente aumenta a fidelidade da replicação do material genético (CARNEIRO, 2016; OLIVEIRA, 2016; GHELLER et al., 2016).

2.9. *Allium cepa* como bioindicador

O *Allium cepa* é um bioindicador de possíveis efeitos divergentes em cromossomos. Ele é muito utilizado em estudos genotóxicos, antigenotóxicos, mutagênicos e antimutagênicos de várias substâncias, por se apresentar como um organismo padrão para testes rápidos, no qual as substâncias interagem com os ácidos nucleicos, permitindo identificar possíveis riscos ou benefícios para os seres humanos (VARANDA, 2006; FRESCURA et al., 2013).

Além de ser a espécie mais indicada pela “Royal Swedish Academy of Science” (FISKESJO, 1985) e pelo “Gene-Tox Program” (GRANT, 1982), apresenta alta sensibilidade e equipara-se com testes animais; é de fácil manuseio, baixo custo, apresenta resultados em curto prazo e possui boas condições cromossômicas para estudos de danos. Seu cariótipo consiste em oito pares de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (FISKEJO, 1985; CARDOSO, 2017). As células meristemáticas radiculares de *A. cepa* apresentam grande eficiência em estudos citogenéticos e apresentam similaridade com sistemas de testes em mamíferos em relação à mutagenicidade (BIAZI et al., 2018).

O teste *A. cepa* possui fácil análise, já que as alterações cromossômicas podem ser observadas em qualquer uma das fases da divisão celular. Essas

alterações que são apontadas como indícios de atividade mutagênica propiciada por agentes clastogênicos (quebra de cromossomos) e agentes aneugênicos (perda de cromossomos) (MATSUMOTO et al., 2006; LEME e MARIN-MORALES, 2008; FILHO et al., 2019).

Nos estudos de plantas medicinais, o sistema *Allium cepa* é bem aceito levando em conta que suas raízes entram em contato direto com a substância, o que permite a avaliação de diferentes concentrações; além disso, esses testes possuem alta correlação observada com os resultados de sistemas de testes em animais (VICENTINI, et al., 2001, BAGATINI, et al., 2007; RODRIGUES et al., 2016).

Após a exposição à substância por determinado tempo podem ser avaliados tanto os efeitos citotóxicos como genotóxicos: os citotóxicos por meio da redução do crescimento das raízes ou da diminuição do índice mitótico e os genotóxicos pela análise da formação de micronúcleos ou anormalidades da anáfase-telófase (KRÜGER, 2009; GALTER, 2016); ainda podem ser observados os efeitos mutagênicos e antimutagênicos, com as análises de alterações nucleares (BRAGATINI et al., 2007; FILHO et al., 2019).

Tendo em vista a popularidade e utilização de *Zingiber officinale* conjuntamente com o interesse medicinal do rizoma faz-se necessária à avaliação toxicogenética e antimutagênica do óleo essencial de rizomas de gengibre provenientes da Região Sul do Espírito Santo, assim como sua caracterização química.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar a composição química do óleo essencial de *Zingiber officinale* de rizomas provenientes da Região Sul do Espírito Santo e avaliar a possível atividade toxicogenética e antimutagênica.

3.2. Objetivos Específicos

- 1) Realizar a caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Zingiber officinale*;
- 2) Analisar o efeito fitotóxico do óleo essencial nas concentrações de 3000, 1500, 750, 375, 187, 93, 46 e 23 mg/L (ppm) no desenvolvimento inicial de *Allium cepa*;
- 3) Avaliar os potenciais citotóxico, genotóxico e mutagênico do óleo essencial nas concentrações de 3000, 1500, 750, 375, 187, 93, 46 e 23 mg/L (ppm);
- 4) Avaliar a antimutagenicidade do óleo essencial nas nas concentrações de 3000, 1500, 750, 375, 187, 93, 46 e 23 mg/L (ppm);

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Material Vegetal

Os rizomas de *Zingiber officinale* foram adquiridos no período de abril de 2018, em comércio local da cidade de Alegre, Região Sul do Espírito Santo, Brasil, onde predomina o clima tropical, com maior taxa de pluviosidade no verão e clima seco no inverno.

Para os ensaios biológicos, foram utilizadas sementes de *Allium cepa* da variedade “Baia Periforme” da marca Top Seed. O tempo de tratamento variou de acordo com os objetivos de cada metodologia.

4.2. Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial de *Z. officinale* foi realizada por meio da hidrodestilação, utilizando aparelho do tipo Clevenger. Aproximadamente 1 kg do rizoma foi triturado e transferido para o balão volumétrico com água destilada na proporção de 1:10. Após a hidrodestilação, o hidrolato obtido foi centrifugado promovendo a separação entre as fases aquosa e oleosa. O óleo (sobrenadante) foi retirado e armazenado em frasco âmbar em freezer.

4.3. Análise da composição química do óleo essencial

A análise dos constituintes do óleo essencial de *Z. officinale* seguiu o protocolo de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) - foi utilizado o cromatógrafo da marca Shimadzu QP2010 Plus. Utilizou-se gás Hélio (He) como carregador com vazão de 1,0 mL/min, iniciando a temperatura de 60° C, seguindo um aumento gradual de 5° C a cada 1 minuto até atingir 220° C, permanecendo a essa temperatura por aproximadamente 10 minutos. Foi adicionado 1 µL de óleo essencial já à temperatura de 240° C. A área relativa dos compostos foi determinada por seu percentual relativo, no qual foram identificados os compostos com área relativa maior que 5% (CUTRIM et al., 2019).

4.4. Bioensaios com *Allium cepa*

Os testes foram realizados para avaliar a fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade e antimutagenicidade de diferentes concentrações do óleo essencial.

O óleo essencial de *Zingiber officinale* foi diluído utilizando o solvente DMSO (dimetilsulfóxido) nas concentrações de C1 - 3000, C2 - 1500, C3 - 750, C4 - 375, C5 - 187, C6 - 93, C7 - 46 e C8 - 23 mg/L (ppm), baseadas nos estudos de Esmaeili et al. (2018).

O experimento foi montado em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), utilizando cinco repetições para cada tratamento. Para o controle negativo (CN), foi utilizada água destilada e para o controle positivo (CP), trifluralina na concentração final de 0,84 g/L e o como solvente para as concentrações do óleo essencial foi utilizado o DMSO (dimetilsulfóxido).

- Método Contínuo:

Foram utilizadas cinco placas de Petri com 9cm de diâmetro para cada tratamento, forradas com papel filtro, nas quais 30 sementes de *Allium cepa* foram adicionadas e expostas a 3 mL das diferentes concentrações dos tratamentos diluídos em DMSO por 96 horas, em temperatura controlada de 24° C.

- Método Descontínuo:

As sementes de *A. cepa* foram germinadas em água por 72 horas até as raízes atingirem aproximadamente 2 mm de comprimento; posteriormente, foram transferidas para placas de Petri para os experimentos de pré-tratamento (1), tratamento simultâneo (2) e pós-tratamento (3). O pré-tratamento (1) recebeu 3 mL de diferentes concentrações dos tratamentos diluídos em DMSO por 48 horas e 3 mL de agente mutagênico por mais 48 horas; o tratamento simultâneo (2) recebeu as diferentes concentrações dos tratamentos diluídos em DMSO juntamente com o agente mutagênico durante 48 horas; e o pós-tratamento (3) recebeu 3 mL de agente mutagênico por 48 horas e posteriormente 3 mL de diferentes concentrações dos tratamentos diluídos em DMSO por mais 48 horas.

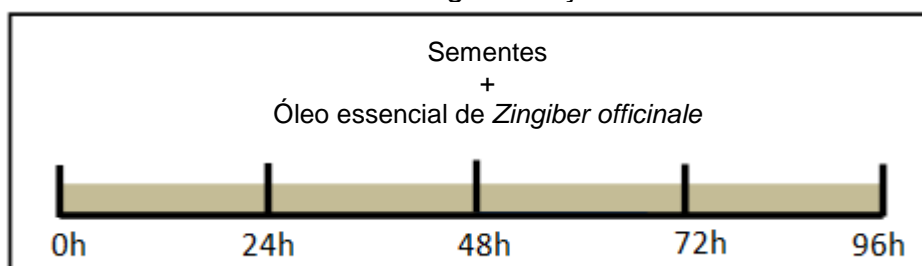
4.5. Análise de Fitotoxicidade

Após a germinação das sementes de *A. cepa* pelo método contínuo, a avaliação da fitotoxicidade foi realizada em 24, 48, 72 e 96 horas, de acordo com Maguirre (1961). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado de acordo com o somatório do número de plântulas geminadas (G1, G2, G3, etc.) a cada dia e dividido pelo número de dias decorridos (N1, N2, N3, etc.). A germinação das sementes e o comprimento radicular (CR) foram avaliados após as 96 horas de tratamento.

4.6. Análise de Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade

As análises de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade foram realizadas em raízes provindas do método contínuo, pelo qual as raízes foram tratadas com diferentes concentrações de óleo essencial de *Z. officinale* durante 96 horas e a germinação foi avaliada em quatro ciclos celulares, de acordo com o esquema da figura 4:

Figura 4. Delineamento experimental do modelo contínuo por período de avaliação da germinação.



Após a exposição ao tratamento, as raízes de *A. cepa* foram observadas e medidas com o auxílio de um paquímetro digital para a análise do comprimento radicular. Posteriormente, as raízes foram coletadas e fixadas em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) durante 24 horas.

Passada a etapa da fixação, as raízes foram hidrolisadas em HCl 1 M a 60° C, durante 8 minutos. Em seguida, as raízes foram imersas em Reativo de Schiff por duas horas em local escuro. As lâminas foram confeccionadas pela técnica de

esmagamento suave - foram analisadas cinco lâminas para cada tratamento, totalizando 5000 células por tratamento.

A avaliação da citotoxicidade foi feita de acordo com o índice mitótico (IM), cujo somatório do número de células em prófase, metáfase, anáfase e telófase foi dividido pelo número total de células observadas e multiplicado por cem.

A análise da genotoxicidade foi avaliada por meio da frequência de alterações cromossômicas (AC), das quais foram observadas neste trabalho: perda cromossômica, cromossomo com quebra, cromossomo aderente, c-metáfase, ponte, atraso, anáfase multipolar e multipolar com ponte - o somatório de cada uma das alterações, respectivamente, foi dividido pelo número total de divisões.

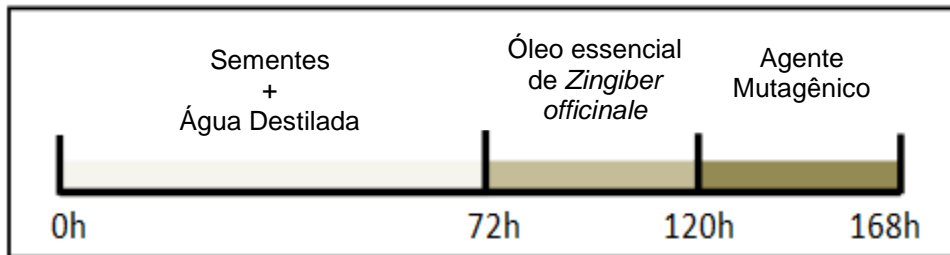
A mutagenicidade foi analisada de acordo com a frequência de células com micronúcleo (MN), quantificadas por meio da divisão do número de células micronucleadas pelo número total de células observadas, multiplicado por cem a fim de obter a porcentagem.

4.7. Análise de Antimutagenicidade

Para as análises de antimutagenicidade foi utilizado o método descontínuo, que contou com três experimentos distintos: pré-tratamento, tratamento simultâneo e pós-tratamento. A água destilada foi utilizada como controle negativo (CN) e trifluralina como controle positivo (CP). Para análise da antimutagenicidade, foram utilizadas as concentrações C5, C7 e C8 por não apresentarem nenhum tipo de dano genotóxico ou mutagênico na análise de mutagenicidade.

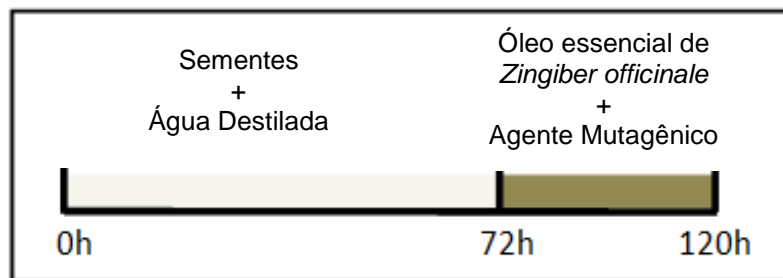
No pré-tratamento, as sementes foram germinadas em água destilada por 72 horas e, posteriormente, foram tratadas com as diferentes concentrações do óleo essencial de *Z. officinale* por 48 horas, antes de serem expostas ao agente mutagênico (trifluralina) por mais 48 horas (figura 5):

Figura 5. Delineamento experimental do modelo descontínuo utilizado no pré-tratamento.



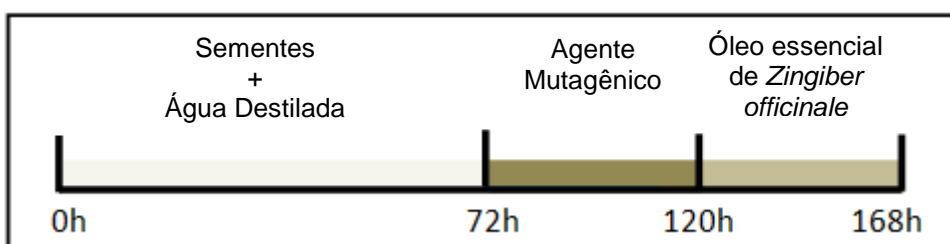
No tratamento simultâneo, após a germinação em água destilada por 72 horas, as sementes foram expostas aos tratamentos com diferentes concentrações do óleo essencial de *Z. officinale* juntamente com o agente mutagênico (trifluralina), durante 48 horas (figura 6):

Figura 6. Delineamento experimental do modelo descontínuo utilizado no tratamento simultâneo.



Para o pós-tratamento, as raízes germinadas, após as 72 horas em água destilada, foram tratadas com o agente mutagênico (trifluralina) por 48 horas antes de terem contato com os tratamentos do óleo essencial de *Z. officinale* por mais 48 horas (figura 7):

Figura 7. Delineamento experimental do modelo descontínuo utilizado no pós-tratamento.



A antimutagenicidade foi estimada considerando células com ausência ou presença de micronúcleo. Para redução de danos antimutagênicos, foi empregada a fórmula (figura 8), na qual CN é o controle negativo, CP é o controle positivo e Trat é o tratamento em questão:

Figura 8. Fórmula de Redução de Danos.

$$Redução (\%) = \frac{a}{a} + \frac{b}{c} \times 100$$

Fonte: Roberto, 2016.

Onde:

a = número de células com micronúcleo e quebra cromossômica no CP;

b = número de células com micronúcleo e quebra cromossômica presente nos tratamentos;

c = número de células com micronúcleo em quebra cromossômica no CN;

4.8. Análise Estatística

Os dados avaliados de *Allium cepa* foram apresentados como média \pm desvio padrão. Os pacotes estatísticos, STATISTICA 7.1 da StatSoft Inc. (2005), e Infostat foram utilizados para a análise estatística; os dados foram analisados quanto à homogeneidade (Levene's e Brown & Forsythe's) e normalidade (Shapiro-Wilks). Seguindo a premissa dos dados que não seguiram a distribuição normal, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis com significância de $p < 0,05$ com a finalidade de comparar as médias de cada parâmetro.

5. RESULTADOS

5.1. Rendimento do óleo essencial

O rendimento da extração do óleo essencial foi calculado com base no volume de óleo obtido pela hidrodestilação em relação à massa do material vegetal utilizado.

Para o presente estudo, a massa de rizoma de *Zingiber officinale* utilizada foi de 1 kg, obtendo 1,6 mL de óleo. O rendimento foi de 0,16% de óleo essencial.

5.2. Análise da composição química do óleo essencial

Na tabela 2, estão relacionados os componentes presentes no óleo essencial, nos quais os componentes majoritários foram α -Zingibereno (22,7%), α -Farneseno (14,9%) e Geranial (13,8%).

Tabela 2. Constituintes identificados (>5%) do óleo essencial de *Zingiber officinale*.

Ordem de Eluição	Composto ¹	A _{rel} (%) ²
1	Canfeno	7,2
2	β -Felandreno	7,4
3	Z-Citral	8,1
4	Geranial	13,8
5	Acetato de geranil	11,0
6	α -Curcumeno	5,7
7	α -Zingibereno	22,7
8	α -Farneseno	14,9
9	β -Sesquifelandreno	9,2

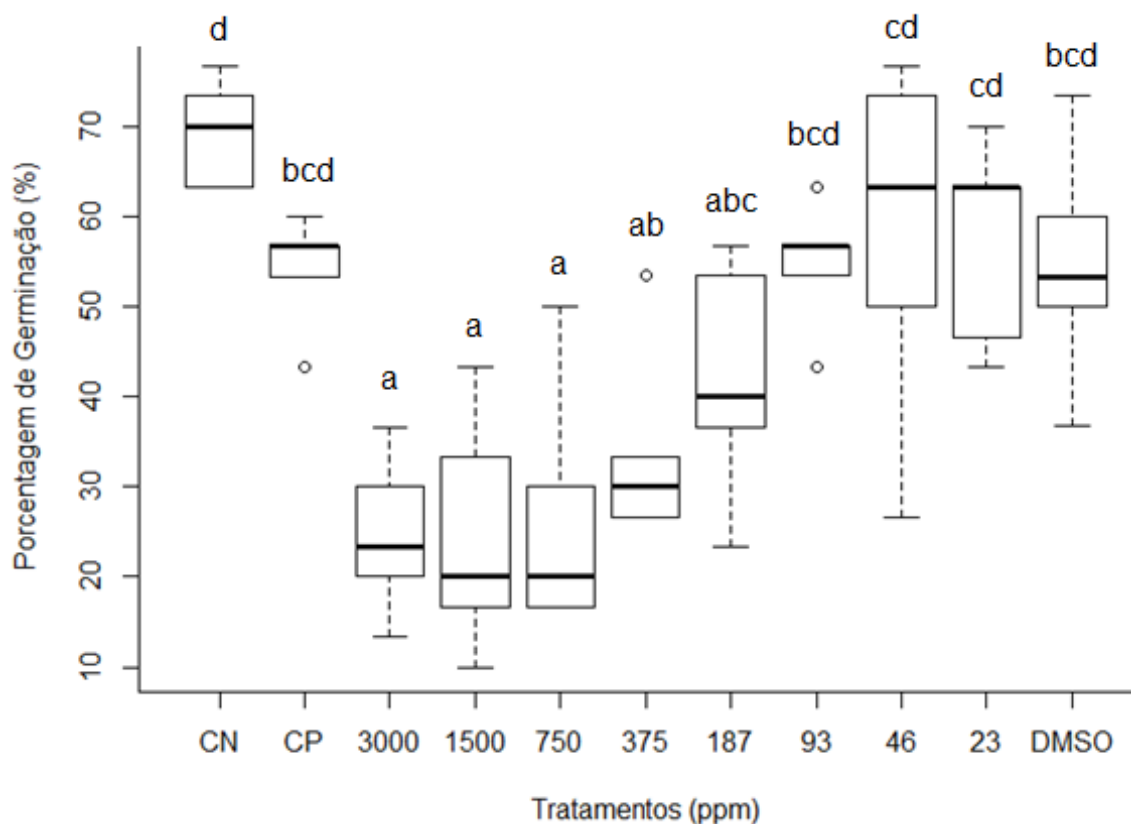
¹Compostos identificados. ²Compostos com área relativa >5% foram identificados.

5.3. Fitotoxicidade em *Allium cepa*

Por meio dos ensaios com *Allium cepa*, foram avaliados a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação (IVG) e o crescimento radicular (CR).

Ao avaliar a porcentagem de germinação (figura 9) foi observada uma redução significativa de 66,36% nas concentrações C1 - 3000 e C2 -1500 mg/L, 63,63% em C3 - 750, 53,63% em C4 - 375 e 42,72% em C5 -187 mg/L, quando comparados ao controle negativo. O DMSO, utilizado para diluição das concentrações do óleo essencial, se manteve compatível com o controle negativo, o que indica que não houve influência dele na germinação.

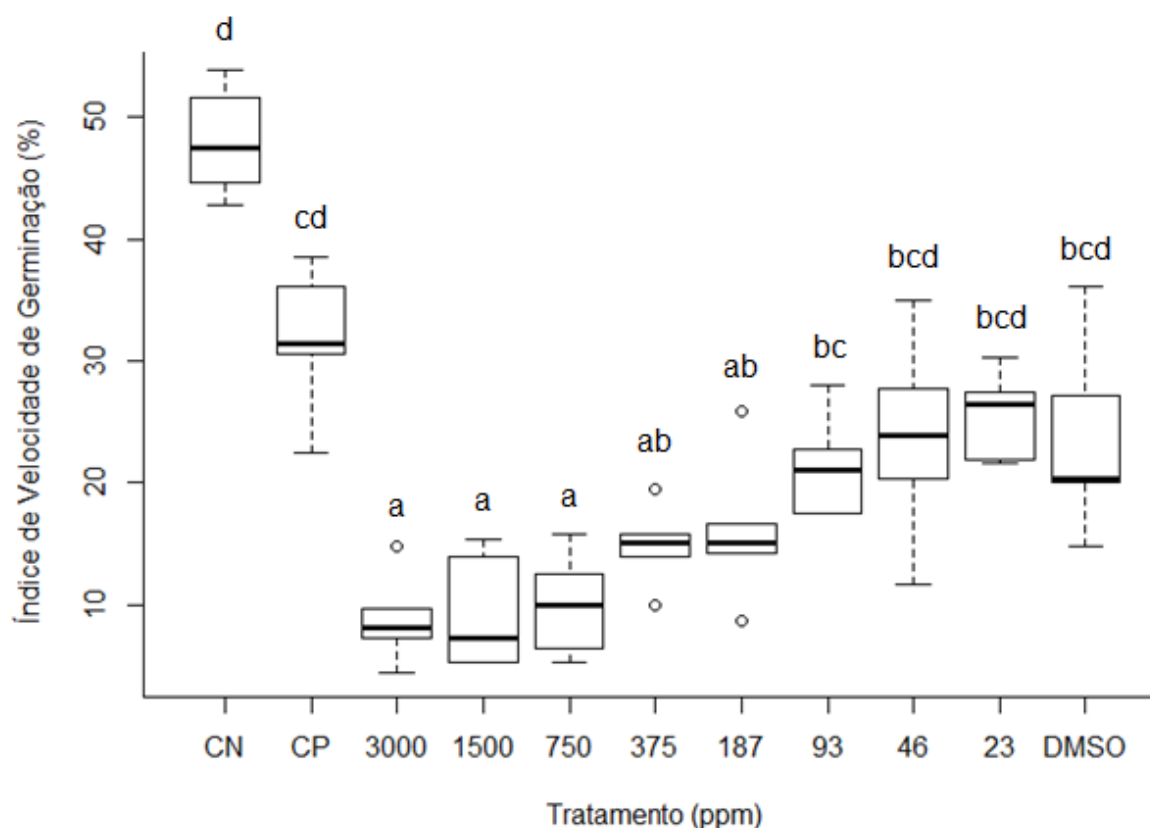
Figura 9. Porcentagem de germinação de raízes de *A. cepa* expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de *Zingiber officinale*.



As médias seguidas com as mesmas letras nas barras não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5% de significância, pelo teste de Kruskal Wallis. CN – controle negativo; CP – controle positivo; DMSO – dimetilsulfóxido.

No índice de velocidade de germinação (figura 10), a redução foi de 81,64% em C1 - 3000 mg/L e 80,48% em C2 - 1500 mg/L, 79,21% em C3 - 750 mg/L, 69,17% em C4 - 375 mg/L, 66,63% em C5 - 187 mg/L e 55,54% em C6 - 93 mg/L. Nas concentrações de C7 - 46 e C8 - 23 mg/L, não foram constatadas alterações significativas em relação ao controle negativo, sugerindo que quanto menor a concentração do tratamento, maior a porcentagem de germinação e do índice de velocidade de germinação observado

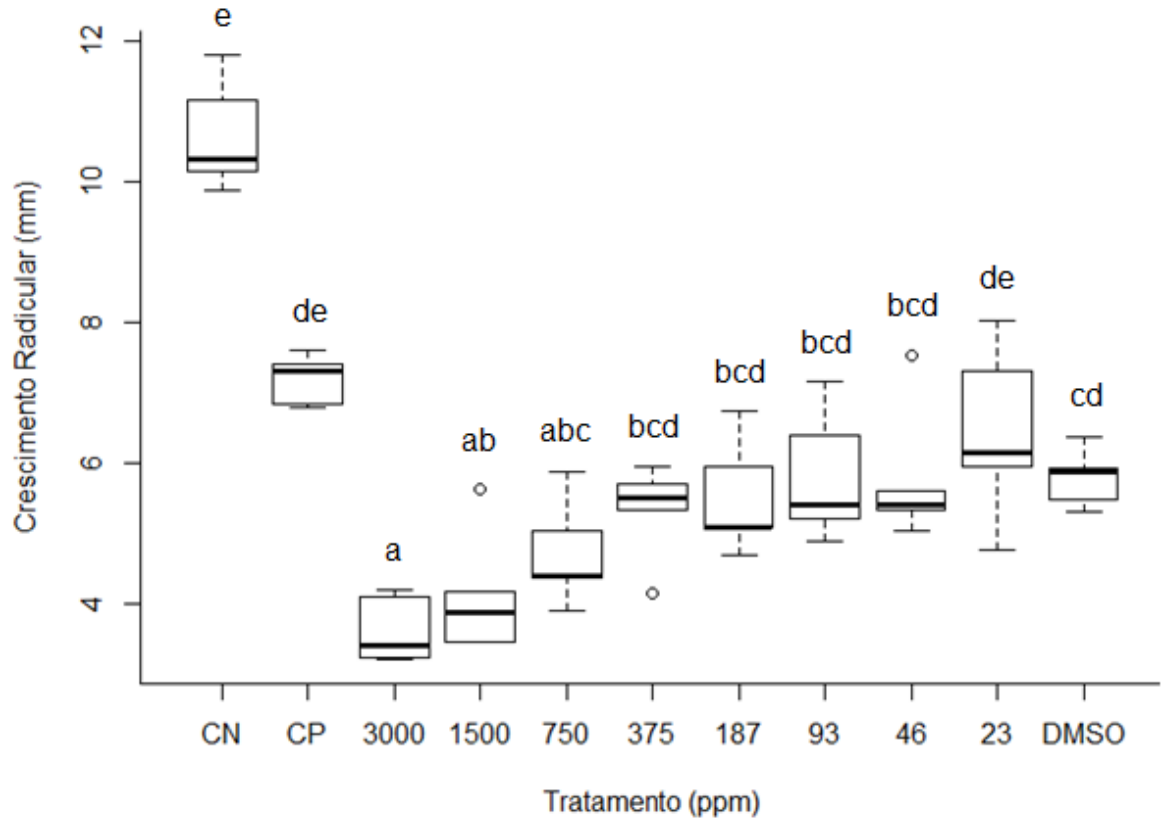
Figura 10. Índice de velocidade de germinação (IVG) de raízes de *A. cepa* expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de *Zingiber officinale*.



As médias seguidas com as mesmas letras nas barras não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5% de significância, pelo teste de Kruskal Wallis. CN – controle negativo; CP – controle positivo; DMSO – dimetilsulfóxido.

Em relação ao crescimento radicular (figura 11), a redução no comprimento das raízes, houve alterações significativas em C1 - 3000, C2 - 1500, C3 - 750, C4 - 375, C5 - 187, C6 - 93 e C7 – 46 mg/L com taxas de 66,00%, 61,42%, 55,81%, 50,02%, 48,33%, 45,53% e 45,70%, respectivamente. A concentração C8 não expressou redução significativa.

Figura 11. Crescimento radicular (CR) de raízes de *A. cepa* expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de *Zingiber officinale*.



As médias seguidas com as mesmas letras nas barras não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5% de significância, pelo teste de Kruskal Wallis. CN – controle negativo; CP – controle positivo; DMSO – dimetilsulfóxido.

A redução no crescimento radicular também pode ser notada comparando as raízes germinadas nas diferentes concentrações do óleo essencial (figura 12).

Figura 12. Comparação entre o crescimento radicular das raízes de *A. cepa* expostas as diferentes concentrações do óleo essencial de *Zingiber officinale*.



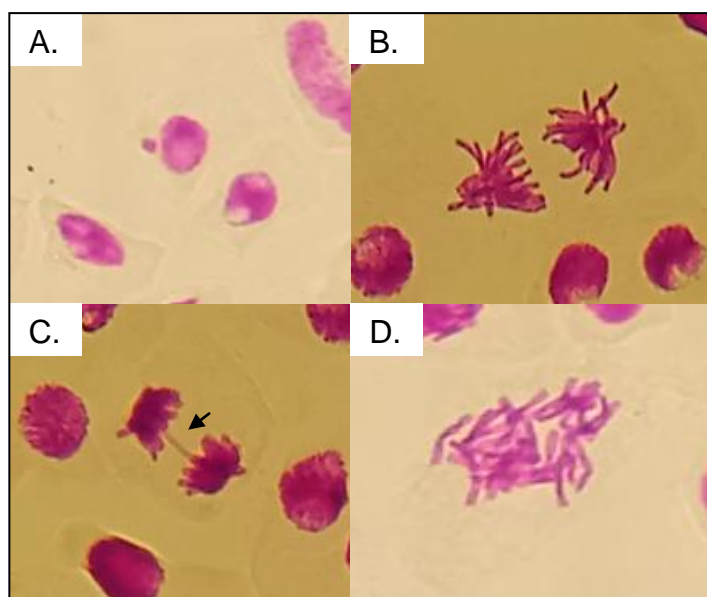
CN – controle negativo; CP – controle positivo; DMSO – dimetilsulfóxido.

5.4. Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade pelo sistema de *Allium cepa*

Na análise de citotoxicidade, avaliada pelo índice mitótico em células meristemáticas de *A. cepa*, foi observado que as concentrações C1 - 3000, C2 - 1500, C4 - 375, C5 - 187 e C6 - 93 mg/L apresentaram redução significativa no índice mitótico (7,24, 8,00, 7,44, 8,08, 8,04% respectivamente) em relação ao controle negativo (tabela 3); as concentrações C3- 750, C7 - 46 e C8 - 23 mg/L não expressaram alterações significativas em relação ao índice mitótico.

Para todas as concentrações analisadas, não foram observados danos de aberrações cromossômicas significativas, porém algumas alterações foram registradas, como: perda cromossômica, aderência cromossômica, c-metáfase, anáfase com ponte, anáfase com atraso e anáfase multipolar (figuras 13 e 14). Para os danos genotóxicos foram consideradas as células com alterações cromossômicas desconsiderando as células micronucleadas, apresentaram alterações significativas em relação ao controle negativo nas concentrações C1 - 3000, C3 - 750 e C4 - 375 mg/L (tabela 3).

Figura 13. Células meristemáticas de *A. cepa* expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de *Zingiber officinale*.



A – célula na interfase com micronúcleo; B – anáfase normal; C – anáfase com ponte cromossômica (seta); D – c-metáfase poliploide.

Em relação à mutagenicidade, observou-se que não houve aumento significativo em nenhuma das concentrações testadas de óleo essencial (tabela 3). Os danos mutagênicos, onde foram consideradas as quebras cromossômicas e as células micronucleadas, também não apresentaram alterações significativas quando comparados ao controle negativo.

Tabela 3. Alterações no ciclo celular em células meristemáticas de *A. cepa* expostas a diferentes concentrações do óleo essencial de *Zingiber officinale*.

Tratamento	IM (%)	AC (%)	MN (%)	Dano		Prófase (%)	Metáfase (%)	Anáfase (%)	Telófase (%)
				Genotóxico	Mutagênico				
CN	8,96±0,42 ^d	1,53±0,96 ^{abcd}	0,20±0,16 ^{ab}	0,87±0,92 ^a	0,86±0,48 ^{abcd}	32,45±2,57 ^a	23,37±2,23 ^{ab}	32,76±3,71 ^{bcd}	13,97±3,12 ^a
CP	8,56±0,28 ^{cd}	8,87±3,06 ^e	1,32±0,37 ^c	7,02±1,66 ^e	3,17±1,73 ^d	34,62±1,64 ^a	22,92±2,25 ^{ab}	30,60±2,21 ^{bc}	13,97±3,27 ^a
3000	7,24±0,40 ^a	2,78±1,76 ^{cde}	0,30±0,35 ^{ab}	2,21±0,75 ^{bcde}	0,87±1,57 ^{abc}	31,64±3,91 ^a	26,66±3,81 ^{bcd}	29,85±4,05 ^{abc}	11,78±3,57 ^a
1500	8,00±0,44 ^{abc}	3,05±2,03 ^{bcde}	0,28±0,23 ^b	2,03±1,53 ^{abcd}	1,30±1,21 ^{abcd}	34,92±4,13 ^a	23,07±3,02 ^{abc}	31,76±2,06 ^{bcd}	11,23±3,27 ^a
750	8,44±0,86 ^{cd}	4,48±0,70 ^e	0,44±0,34 ^{bc}	3,09±0,65 ^{de}	1,82±1,37 ^{cd}	31,46±3,14 ^a	22,62±2,16 ^a	35,83±2,01 ^d	11,78±3,30 ^a
375	7,44±0,30 ^{ab}	4,91±4,64 ^{de}	0,46±0,21 ^{bc}	4,10±3,68 ^{cde}	1,27±1,12 ^{bcd}	32,24±1,89 ^a	29,26±2,33 ^d	25,02±2,54 ^a	13,70±0,97 ^a
187	8,08±0,64 ^{abc}	0,96±1,60 ^{ab}	0,12±0,13 ^{ab}	0,96±1,60 ^{ab}	0,12±0,13 ^a	31,97±1,55 ^a	26,74±2,10 ^{cd}	30,15±1,40 ^{abc}	12,33±1,37 ^a
93	8,04±0,41 ^{abc}	1,53±1,10 ^{abcd}	0,16±0,09 ^{ab}	0,76±0,69 ^{abc}	0,93±0,77 ^{abcd}	32,90±2,07 ^a	23,86±0,74 ^{ab}	29,58±1,09 ^{ab}	15,07±2,17 ^a
46	8,22±0,20 ^{bcd}	0,48±0,65 ^a	0,22±0,29 ^{ab}	0,48±0,65 ^a	0,22±0,29 ^{ab}	34,54±0,67 ^a	24,41±0,90 ^{abc}	30,66±1,56 ^{bc}	11,78±2,08 ^a
23	8,28±0,53 ^{cd}	1,47±0,61 ^{abcd}	0,14±0,17 ^{ab}	1,21±0,07 ^{abcd}	0,40±0,57 ^{ab}	33,60±1,04 ^a	40,17±2,44 ^{abc}	31,29±0,52 ^{bcd}	12,06±1,79 ^a
DMSO	8,92±0,29 ^d	1,14±0,82 ^{abc}	0,00±0,00 ^a	0,45±0,61 ^a	0,69±1,04 ^{abc}	31,39±1,87 ^a	25,54±1,44 ^{bcd}	32,29±1,27 ^{cd}	13,15±1,56 ^a

As médias seguidas com a mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5% de significância pelo teste Kruskal Wallis.

CN – controle negativo; CP – controle positivo; DMSO – dimetilsulfóxido; IM – índice mitótico; AC – alterações cromossômicas; MN - micronúcleo.

5.5. Antimutagenicidade em *Allium cepa*

Quanto à antimutagenicidade, avaliada pela frequência de micronúcleos e quebras cromossômicas em relação à porcentagem de redução de danos, a concentração C5 -187 mg/L não apresentou redução de danos mutagênicos no pré-tratamento. Porém, no tratamento simultâneo, C5 - 187 mg/L apresentou 94,87% de redução de danos e 105,13% no pós-tratamento. A concentração C7 - 46 mg/L expressou a menor redução de danos no pré-tratamento, com 10,26%; já no tratamento simultâneo, a redução dos danos mutagênicos foi de 41,03% e no pós-tratamento a redução de danos causados pelo agente mutagênico foi de 71,79%.

A menor concentração, C8 - 23 mg/L, demonstrou uma redução de danos mutagênicos de 56,41% no pré-tratamento, 32,05% no tratamento simultâneo e 30,77% na pós-tratamento.

Tabela 4. Porcentagem de redução de micronúcleo (MN) + quebra cromossômica em células de *A. cepa* submetidas a diferentes tratamentos com diferentes concentrações do óleo essencial de *Zingiber officinale*.

Tratamentos	Experimentos					
	Pré-Tratamento		Tratamento Simultâneo		Pós-Tratamento	
	MN + Quebra	Redução do Dano (%)	MN + Quebra	Redução do Dano (%)	MN + Quebra	Redução do Dano (%)
CN	0,28±0,16 ^a	-	0,28±0,16 ^a	-	0,28±0,16 ^a	-
CP	1,06±0,62 ^{bc}	-	1,06±0,62 ^b	-	1,06±0,62 ^b	-
187	1,56±0,59 ^c	-64,10	0,32±0,36 ^a	94,87	0,24±0,18 ^a	105,13
46	0,98±0,52 ^{abc}	10,26	0,74±0,49 ^{ab}	41,03	0,50±0,29 ^{ab}	71,79
23	0,62±0,50 ^{ab}	56,41	0,81±0,35 ^{ab}	32,05	0,82±0,16 ^b	30,77

As médias seguidas com a mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5% de significância, pelo teste de Kruskal Wallis.
CN – controle negativo; CP – controle positivo; MN – micronúcleo.

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho, o óleo essencial de *Zingiber officinale* apresentou rendimento de 0,16%. De acordo com Dabague (2013), o óleo essencial do gengibre se acumula em seus rizomas e normalmente possui rendimento inferior ao da maioria das espécies aromáticas, como por exemplo, o *Rosmainus officinalis* (alecrim) com média de 2,13 a 1,09%. O rendimento do óleo essencial pode ser influenciado por diversos fatores, como a metodologia empregada, tempo de extração, parte vegetal utilizada. Como os óleos essenciais provêm de metabólitos secundários, vale ressaltar que são resultados da interação química entre as plantas e o ambiente. Os fatores, como clima, luminosidade, nutrição, temperatura, características do solo, época e horário de colheita, entre outros, podem influenciar na extração (FERNANDES, 2012; CUTRIM et al., 2019).

Utilizando o método de arraste a vapor por meio do aparelho Clevenger com alterações, Diemer (2016) obteve rendimento de 0,18% na extração do óleo essencial de gengibre. Já Silva et al (2014) e Cutrim (2019) obtiveram rendimento de 0,13%; Martins (2010) descreve rendimento de 0,37% em um período de quatro horas, utilizando a mesma metodologia. Portanto, o rendimento de óleo essencial obtido neste trabalho está de acordo com os dados relatados na literatura por Diemer (2016) e de Cutrim (2019), sugerindo que não houve influências externas capazes de acometer o rendimento de extração do óleo essencial.

Os compostos presentes no óleo essencial de *Z. officinale* (tabela 2) provindo de raízes cultivadas no Sul do Espírito Santo apresentam similaridade com os compostos descritos por Dabague (2011) em raízes de gengibre cultivado no município de Morretes, no Paraná, com exceção apenas de dois compostos que não estão presentes no óleo essencial extraído de raízes do Espírito Santo, eucaliptol e β -bisaboleno. Cutrim (2019) extraiu o óleo essencial de *Z. officinale* de raízes cultivadas em São Luís, no Maranhão, região que também é litorânea. Quando comparados os compostos provenientes de gengibre do Maranhão e do Sul do Espírito Santo nota-se similaridade, como por exemplo, o composto majoritário, que em ambos os casos foi o α -zingibereno, porém há alguns compostos a mais no óleo essencial de raízes cultivadas no Maranhão (tabela 2).

Na análise da composição química do óleo essencial de *Z. officinale*, foram observados os monoterpenos acetato de geranila ((2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-

yl acetate), neral ((2Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal) e geranial ((2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal) (que em mistura isomérica formam o citral), que despertam grande interesse na indústria farmacêutica e alimentícia, pois podem ser utilizados na perfumaria, na síntese de vitamina A e até mesmo para formulação de aromas alimentícios. Também são atribuídas a eles atividades antimicrobianas e antifúngicas do óleo, além de atuarem na defesa química da planta contra a ação de predadores (GUIMARÃES et al., 2008; SANTOS et al., 2009; SILVA, 2016).

Outros monoterpenos observados na composição do óleo essencial de *Z. officinale* cultivado no Sul do Espírito Santo foram o canfeno ((1R)-2,2-Dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptane) e β -felandreno ((3S)-3-Isopropyl-6-methylenecyclohexene), presentes principalmente em plantas de regiões tropicais do Brasil, como as regiões Sudeste e Centro-Oeste do país. Além de alguns derivados do canfeno possuírem propriedade inseticida, também apresentam atividades citotóxicas em células de melanoma humano e possuem grandes chances de se tornarem fármacos com atividade antitumoral, graças a sua capacidade antiploriferativa e potencial terapêutico frente ao melanoma, agindo como indutor de apoptose e intervindo diretamente no ciclo celular (SOARES, 2008; PASSOS, 2013). Já o β -felandreno, utilizado pela indústria farmacêutica na produção de fragrâncias, detém também ação digestiva e atividade antimicrobiana para diferentes tipos de bactérias, fungos e leveduras (SIQUEIRA et al., 2016). Conjuntamente, o β -felandreno tem apresentado fortes evidências de ações anti-inflamatórias, apresentando capacidade de modulação da migração de neutrófilos e inibição de citocinas inflamatórias e atividades antinociceptivas (SIQUEIRA et al., 2016). Outros estudos com células tumorais ainda discutem a capacidade do β -felandreno de induzir morte celular e autofagia (HSIEH et al., 2014; HSIEH et al., 2015; LIN et al., 2015).

Da classe dos sesquiterpenos foram quantificados o α -curcumeno (1-Methyl-4-(6-methyl-5-hepten-2-yl)benzene), α -zingibereno ((5R)-2-Methyl-5-[(2S)-6-methyl-5-hepten-2-yl]-1,3-cyclohexadiene), α -farneseno ((3E,6E)-3,7,11-Trimethyl-1,3,6,10-dodecatetraene) e α -sesquifelandreno (3-Methylene-6-(6-methyl-5-hepten-2-yl)cyclohexene). Compostos como o α -curcumeno e α -zingibereno vem sendo estudados graças a sua capacidade de ativação da caspase-3, um dos principais executores do processo apoptótico, que por sua vez, é capaz de eliminar células cancerosas ou malignas sem danificar as células normais e os tecidos circundantes.

Ambos obtiveram resultados citotóxicos em células SiHa, células cancerígenas do colo do útero, provindas do HPV-16 (vírus do papiloma humano de alto risco oncogênico) (SHIN et al., 2013; LEE, 2016).

Já o α -farneseno pode ser capaz de prevenir a neurodegeneração por meio de mecanismos antioxidantes e antigenotóxicos, apresentando potencial terapêutico para Alzheimer, Parkinson, entre outros distúrbios neurodegenerativos do sistema nervoso; pois, com o passar do tempo, as catecolaminas, um grupo de hormônios semelhantes produzidos na medula adrenal, podem ser oxidadas, gerando peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um metabólito tóxico que pode causar danos ao DNA de neurônios corticais. Estudos recentes sugerem que o α -farneseno apresenta efeitos protetores contra a citotoxicidade induzida pelo peróxido de hidrogênio (TURKEZ et al., 2013). O β -sesquifelandreno, de acordo com os estudos de Tyagi et al. (2015), pode aumentar a expressão de fatores pró-apoptóticos, podendo inibir a sobrevivência de células cancerígenas.

Na análise de fitotóxicidade, as concentrações 3000, 1500, 750, 375 e 187 mg/L apresentaram alterações significativas em relação à redução da germinação, do índice de velocidade de germinação e do crescimento radicular. Nas concentrações mais baixas, 93, 46 e 23 mg/L, a média do crescimento radicular foi mantida, sugerindo que em baixas concentrações o óleo essencial de *Z. officinale* não afeta o desenvolvimento radicular. Esses resultados sugerem potencial alelopático, em que há a capacidade bioherbicida, originados por metabólitos secundários das plantas (MIRANDA et al., 2015). Estes herbicidas podem estar relacionados aos efeitos do citral, que por sua vez é capaz de atuar na defesa química da planta contra a ação dos predadores ou aos derivados do canfeno, que podem expressar ação inseticida. Os óleos essenciais de plantas medicinais, sobretudo as aromáticas, também são considerados alternativas seguras no controle de fungos, que também pode estar relacionado à ação do citral, resultado da mistura isomérica de neral e geranial; é encontrado no óleo essencial de *Z. officinale* e vem sendo estudado como fungicida graças a seu potencial de inibição de crescimento micelial (COSER, 2018).

As menores concentrações (93, 46 e 23 mg/L) não demonstraram capacidade de redução da porcentagem de germinação (figura 9) e do índice de velocidade de germinação (figura 10). Em relação ao crescimento radicular, apenas a concentração C8 não expressou capacidade em reduzir o tamanho das raízes

(figura 11 e 12), sugerindo que em baixas concentrações (23 mg/L) o óleo essencial de *Z. officinale* não expressa efeitos alelopáticos.

A citotoxicidade do óleo essencial de *Z. officinale*, avaliada pelo índice mitótico (IM), as concentrações 3000, 1500, 375, 187 e 93 mg/L expressaram reduções significativas, que podem ser explicadas pela ação citotóxica de derivados do canfeno, descrita por Soares (2008) e Passos (2013). Esses autores descrevem as atividades indutoras de apoptose relacionadas a alterações no ciclo celular, indicando alto potencial para estudos antitumorais. O α -curcumeno e α -zingibereno também podem estar relacionados à atividade citotóxica das concentrações já que ambos os compostos estão relacionados ao processo apoptótico (LEE, 2016).

Com base nos estudos de Aragão et al. (2015), as taxas de índice mitótico, alterações cromossômicas e alterações nucleares estão diretamente ligadas ao desenvolvimento da raiz de uma planta, logo, quando há a diminuição do índice mitótico em razão da exposição ao óleo essencial, o número de divisões celulares e de células viáveis é reduzido, dificultando o desenvolvimento de órgãos vegetais, como é o caso das raízes, em que seu crescimento depende do aumento do número de células.

A interferência no desenvolvimento das raízes, como resultado da redução do índice mitótico em 3000 e 1500 mg/L pode enfatizar o potencial alelopático das concentrações, visto que não só o efeito do aleloquímico sobre a germinação da planta deve ser avaliado, mas também as mudanças fisiológicas no sistema vegetal, que é indicativo de atividade citotóxica (SILVA et al., 2016).

Em relação à genotoxicidade, as concentrações 3000, 750 e 375 mg/L expressam danos significativos (tabela 3), o que insufla que altas concentrações do óleo essencial podem ocasionar lesões celulares, porém esses danos podem ser passíveis de reparo (OLIVEIRA, 2016).

Neste trabalho, foram observadas com baixa frequência as seguintes alterações cromossômicas: perdas cromossômicas, aderências cromossômicas, c-metáfases, pontes anafásicas, e anáfases multipolares (figura 3). As perdas cromossômicas podem ser provocadas por atrasos cromossômicos durante a separação que ocorre na anáfase (REZENDE, 2018). Já os cromossomos aderentes são originados por alguma mudança estrutural nos cromossomos, que altera a condensação cromossômica normal, resultando em estruturas cromossômicas aglomeradas. Essas anormalidades são resultados da interação de substâncias

tóxicas com as moléculas do DNA, provocando condensação de DNA ou ligações entre cromátides (DIEGUES et al., 2015; GALTER, 2016).

A frequência de alterações cromossômicas pode estar associada a fatores como a atuação do óleo essencial em fibras do fuso mitótico, acarretando aumento das taxas de c-metáfases nas maiores concentrações - quando há alterações nas fibras do fuso a metáfase é interrompida e os cromossomos podem ser visualizados em alto grau de condensação com centrômeros bem definidos (LEME e MARIN-MORALES, 2009; GALTER, 2016). Já as pontes cromossômicas vêm como consequência da junção de extremidades cromossômicas quebradas, formando cromossomos que se ligam aos dois polos do fuso mitótico (COSTA et al., 2014).

Foram observados também atrasos anafásicos. Segundo os estudos de Queiroz et al. (2016), os atrasos na anáfase mitótica diminuem a velocidade de migração e disjunção dos cromossomos, que podem ser responsáveis pela redução das taxas de mutações espontâneas. A taxa de anáfases multipolares também aumentou exponencialmente de acordo com as concentrações do óleo essencial, elas ocorrem quando há mais de um fuso acromático durante o ciclo mitótico (FERNANDES et al., 2009). Não foram observadas, todavia, alterações mutagênicas significativas, o que sugere que não houve fixação dos danos genotóxicos (figura 3).

Para o teste de antimutagenicidade, foi utilizado o modelo descontínuo de germinação de sementes de *A. cepa*, no qual as sementes foram germinadas em água destilada até atingirem aproximadamente 2 mm de tamanho, antes de serem expostas aos diferentes tratamentos (tabela 4).

Foram observadas apenas células com micronúcleos, que podem ser resultando de uma quebra (evento clastogênico) ou perda cromossômica (evento aneugênico). As perdas cromossômicas podem ocorrer devido a alterações nos microtúbulos, que interferem diretamente na separação da cromátide, o que pode gerar células com diferenças numéricas de cromossomos e, conseqüentemente, a formação de células filhas desiguais ou portadoras de núcleos assimétricos. Esporadicamente, cromossomos atrasados também podem formar micronúcleos (ARAGÃO et al, 2015; REZENDE, 2018).

As concentrações utilizadas nos ensaios antimutagênicos foram 187, 93 e 23 mg/L, pois elas não expressaram diferenças significativas em relação à genotoxicidade (tabela 3).

No pré-tratamento, 187 mg/L não foi capaz de reduzir danos, em contrapartida, 46 mg/L apresentou uma taxa de redução de danos de 10,26% e 23 mg/L de 56,41%. Os agentes desmutagênicos são aqueles capazes de proteger o DNA contra danos causados por agentes externos. De acordo com Magosso (2015), esses agentes expressam suas ações preferencialmente no pré-tratamento, o que propõe que o óleo essencial de *Z. officinale* pode atuar como protetor da célula mediante bloqueio ou modificação do agente mutagênico, impedindo seu contato com o DNA. Vale à pena ressaltar que o α -farneseno é um dos componentes majoritários encontrados no óleo essencial e que vem sendo estudado graças a seu potencial antioxidante, que pode agir como protetor da célula contra a degeneração das membranas, dificultando a passagem de agentes mutagênicos intermembras (TURKEZ et al., 2013).

Para a análise realizada no tratamento simultâneo, as concentrações 187, 46 e 23 mg/L reduziram danos de 94,87, 41,03 e 32,05%, respectivamente. De acordo com os estudos de Mauro et al. (2014), o tratamento simultâneo pode agir tanto como agente desmutagênico como agente bioantimutagênico, atuando na prevenção e no reparo de danos genéticos, respectivamente, o que poderia explicar a alta taxa de redução de danos observada nesse tratamento. Esse fato sugere que o óleo essencial de *Z. officinale* poderia inativar o agente mutagênico por meio do bloqueio ou modificação para que não entre em contato com o material genético (desmutagênese) ou modulando a replicação e o reparo do DNA, inibindo os possíveis erros do sistema de reparo (bioantimutagênese) (GHELLER et al., 2017).

No pós-tratamento, as concentrações 187, 46 e 23 mg/L foram capazes de reduzir os danos em 105,13, 71,79 e 30,77%, respectivamente, sugerindo a eficiência do óleo essencial de *Z. officinale* na bioantimutagênese, que está relacionada à capacidade já existente na célula de corrigir os danos no material genético (MAGOSSO, 2015).

Além de apresentar taxas de redução de danos, sugerir capacidade de atuação como agente desmutagênico e bioantimutagênico, e de possuir compostos que podem ser capazes de induzir a apoptose de células tumorais, como o citral - capaz de provocar estresse oxidativo em células ativando o gene que estimula o encerramento do ciclo celular, incentivando a apoptose em células com erros no DNA (TISSERAND, 2014); ou o canfeno e o β -felandreno, os quais possuem capacidade antiproliferativa e de indução à morte celular (PASSOS, 2013; LIN et al.,

2015); ou o α -curcumeno e o α -zingibereno, capazes de ativar a caspase-3, que atua como um dos principais executores do processo apoptótico; e o α -sesquifelandreno, que aumenta a expressão de fatores que levam à apoptose (TYAGI et al., 2015)

O óleo essencial de *Z. officinale* possui compostos antioxidantes, os quais não causam danos citotóxicos e auxiliam no processo de retardo da degeneração da membrana celular, dificultado a entrada de moléculas indutoras de danos ao DNA, o que pode estar associado à prevenção de várias doenças e reprimir os processos de carcinogênese e mutagênese (COSTA et al., 2014; VIDAL et al., 2018).

Vale ressaltar que o α -farneseno, composto em abundância no óleo essencial de *Z. officinale*, possui propriedades antioxidantes e antigenotóxicas, o que sugere repressão na fixação de lesões no DNA (TURKEZ et al., 2013).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises de fitotoxicidade e citotoxicidade indicam que em altas concentrações o óleo essencial de *Z. officinale* podem apresentar potencial alelopático, que pode ser explicado devido a componentes como o canfeno, α -curcumeno e α -zingibereno.

Também foi observado potencial genotóxico nas concentrações mais altas do óleo essencial (3000, 750 e 375 mg/L), todavia não foram expressas alterações mutagênicas, o que sugere que não há fixação de danos, apesar de altas concentrações do óleo essencial serem capazes de ocasionar lesões celulares.

Frente às taxas de redução de danos mutagênicos, pode-se sugerir que o óleo essencial de *Z. officinale* expressou atividades antimutagênicas, atuando melhor em baixa concentração (C8 – 23 mg/L) quando analisado no pré-tratamento, sugerindo potencial protetivo, que pode ser indicativo de atividade desmutagênica.

Atesta-se também a expressão de atividade antimutagênica em alta concentração (C5) quando avaliado no pós-tratamento, esse fato sugere atividade bioantimutagênica e, no tratamento simultâneo, pode apresentar ação de atividades desmutagênicas e bioantimutagênicas, na qual a concentração do óleo essencial foi diretamente proporcional à taxa de redução de danos.

Com base nos resultados é possível sugerir que o óleo essencial de *Zingiber officinale* não apresenta atividades toxicogênicas capazes de danificar o material genético; e ainda apresenta atividade antimutagênica, atuando tanto como agente bioantimutagênico tanto como agente desmutagênico. O que pode sugerir o uso do óleo essencial como antioxidante e até mesmo como antitumoral, porém são necessários mais estudos para que o mesmo seja utilizado com essas finalidades.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. R. D. Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade, antigenotoxicidade e expressão dos genes Tp53 e Ephx2 em ratos tratados com *Caryocar villosum*. **Tese** – (Toxicologia), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 103 f.,2013. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60134/tde-21062013-101342/en.php>>. Acesso em: 14 set. 2018.

AMES, B. N. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. **Science**, Washington DC, v. 221, n. 4617, p. 1256-1264, 1983.

ANDRADE, M. A. *et al.* Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

AQUINO, V. V. F. D. *et al.* Metabólitos Secundários e ação antioxidante de *Croton heliotropiifoliuse Croton blanchetianus*. **Acta Brasiliensis** , Patos, v. 1, n. 3, p. 28-31, 2017. Disponível em: <<http://revistas.ufcg.edu.br/ActaBra/index.php/actabra/article/view/30/25>>. Acesso em: 22 jan. 2019.

ARAGÃO, F. B. *et al.* Phytotoxic and cytotoxic effects of Eucalyptus essential oil on lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Allelopathy Journal**, Alegre, ES, v. 35, n. 1, p. 259-272, 2015.

ARAGÃO, F. B. Prospecção da toxicidade e atividade enzimática de fungicidas por meio de bioensaios com *Lactuca sativa*. **Dissertação** – (Biologia Vegetal), Vitória, 93f., 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufes.br/jspui/bitstream/10/9936/1/tese_10627_PPGBV_FRANCIEL_EN%20ARAGAO_VERS%c3%83O%20BANCA.pdf>. Acesso em: 19 set. 2018.

ARALDI, R. P. *et al.* Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 74-

82, 2015. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1016/j.biopha.2015.04.004>>. Acesso em: 27 mai. 2018.

ASLAM, D. N.; HORWATH, W.; VANDERGHEYNST, J. S. Comparison of several maturity indicators for estimating phytotoxicity in compost-amended soil. **Waste Management**, Califórnia, v. 28, n. 11, p. 2070-2076, 2007. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1016/j.wasman.2007.08.026>>. Acesso em: 20 set. 2018.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. D; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 17, n. 3, p. 444-447, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000300019>. Acesso em: 5 jun. 2018.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils: A review. **Food and Chemical Toxicology**, Marrocos, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2007.

BARBOSA, J. D. A. *et al.* Allelopathy of aqueous *Pachyrhizus erosus* L. extracts on *Euphorbia heterophylla* and *Bidens pilosa*. **Agricultural Research in the Tropics**, Goiânia, v. 48, n. 1, p. 59-65, 2018.

BATISTA, J. G. F; BATISTA, E. R. B. **Compostagem**: utilização de compostos em horticultura. 1. ed. Açores: Universidade dos Açores - CITA-A, 2007. p. 1-252.

BIANCHI, J.; MANTOVANI, M. S.; MARIN-MORALES, M. A. Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. **Journal of Environmental Sciences**, Rio Claro, v. 36, n. 1, p. 102-111, 2015. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1016/j.jes.2015.03.034>>. Acesso em: 15 jun. 2018.

BIAZI, B. I.; OGO, F. M.; OLIVEIRA, R. J. D. Análise mutagênica e antimutagênica do carotenoide luteína pelo teste de *Allium cepa*. **Revista Terra e Cultura**, Botucatu, SP, v. 29, n. 56, p. 11-22, 2018. Disponível em: <<http://periodicos.unifil.br/index.php/Revistateste/article/view/182/194>>. Acesso em: 19 mar. 2019.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300005>. Acesso em: 13 ago. 2018.

BOCHNIE, K. A.; GREGÓRIO, P. C.; MACIEL, R. A. P. Análise da viabilidade celular por MTT em células tratadas com toxinas urêmicas: revisão. **Cad. da Esc. de Saúde**, Curitiba, v. 1, n. 15, p. 42-51, 2016. Disponível em: <<http://portaldeperiodicos.unibrasil.com.br/index.php/cadernossaude/article/view/2453/2023>>. Acesso em: 17 out. 2018.

BODE, A. M.; DONG, Z. **Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects**. 2. ed. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 2011. p. 1-500.

BRASIL. Ministério da Saúde: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC nº 10**, Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde: Secretaria de Atenção à Saúde. Política Nacional De Práticas Integrativas e Complementares No SUS. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2006.

BRUNING, M. C. R; MOSEGUI, G. B. G; VIANNA, C. M. D. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232012001000017&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 17 ago. 2018.

CARDOSO, E. D. S. *et al.* Conhecimento e utilização de gengibre por familiares de alunos de duas unidades escolares de Alta Floresta, MT. **GAIA SCIENTIA**, Alta Floresta, v. 12, n. 3, p. 145-154, 2019. Disponível em: <<http://www.periodicos.ufpb.br/ojs2/index.php/gaia/article/view/38936/21868>>. Acesso em: 4 mai. 2019.

CARDOSO, S. C.; VICENTINI, V. E. P; PERON, A. P. Avaliação da citotoxicidade do antidepressivo Tryptanol, em células meristemáticas de *Allium cepa*. **Revista Uningá**, Apucarana, PR, v. 14, n. 1, p. 161-168, 2017.

CARITÁ, R. Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de amostras de águas de recursos hídricos que recebem efluentes urbanos e industriais do pólo ceramista da cidade de Santa Gertrudes - SP. **Dissertação** - (Toxicologia), Rio Claro, SP, 190 f., 2010. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/87723/carita_r_me_rcla.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 12 ago. 2018.

CARMO, J. B. M. D; VIEIRA, A. C. D. M. **Plantas com atividade inseticida para uso em cultivo orgânico e agroecológico**. 1. ed. Rio de Janeiro: Cerciav, 2016. p. 1-64.

CARNEIRO, C. C. Avaliação das atividades genotóxica, antigenotóxica, citotóxica, anticitotóxica, angiogênica e antiangiogênica de elagitaninos utilizando ensaios *in vitro* e *in vivo*. **Tese** – (Biologia), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 123 f., 2016. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/6424#preview-link0>>. Acesso em: 13 ago. 2018.

CARNEIRO, F. M. *et al.* Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência**, Iporá, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014. Disponível em: <http://crfmg.org.br/comunicacao/estudos_com_plantas_medicinais.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2018.

CARVALHO, W. P. *et al.* Alelopatia de resíduos de plantas de cobertura no controle de braquiária cv. Marandu. *Revista Brasileira de Biociências*, Planaltina/DF, v. 14, n. 2, p. 60-69, 2016.

CHARI, N. *et al.* Enzymeassisted extraction of bioactive compounds from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Food Chemistry**, Mysore, v. 139, n. 4, p. 509-514, 2013. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1016/j.foodchem.2013.01.099>>. Acesso em: 16 ago. 2018.

CHAVES, F. C. M. *et al.* Avaliação agronômica e caracterização química de acessos de gengibre (*Zingiber officinale*) nas condições de Manaus, AM. **Hortic. bras.**, Manaus, v. 3, n. 2, p. 5805-5809, 2012. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80345/1/A4748-T8541-Comp.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2018.

CORREA, N.; SOARES, M. C. F; MUCCILLO-BAISCH, A. L. Conhecimento do tema plantas medicinais e fitoterápicos como instrumento tecnológico na formação dos acadêmicos de enfermagem. **Vittale – Revista de Ciências da Saúde**, Rio Grande, v. 30, n. 2, p. 38-46, 2018. Disponível em: <<https://periodicos.furg.br/vittale/article/view/7496/5400>>. Acesso em: 8 nov. 2018.

COSER, E. Potencial de óleos essenciais no controle do fungo *Sclerotium rolfsii* *in vitro* e em plantas de tomate. **TCC**, Curitiba, SC, v. 1, n. 1, p. 1-39, 2018.

COSTA, A. C. D. *et al.* Citotoxicidade das águas do rio do Peixe (São Paulo-Brasil), em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. **Bioscience Journal**, Maringá, PR, v. 31, n. 1, p. 248-258, 2014.

CUTRIM, E. S. M. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). **Rev. Virtual Quim.**, São Luís, v. 11, n. 1, p. 60-81, 2019. Disponível em: <<http://rvq.s bq.org.br/imagebank/pdf/v11n1a06.pdf>>. Acesso em: 27 mai. 2019.

DABAGUE, I. C. M. *et al.* Rendimento do óleo essencial de *Zingiber officinale* em resposta a diferentes processamentos e tempos de extração. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, Curitiba, PR, v. 11, n. 2, p. 163-168, 2013. Disponível em: <<https://periodicos.pucpr.br/index.php/cienciaanimal/article/view/11324/10661>>. Acesso em: 2 fev. 2019.

DIEGUES, I. P. *et al.* Comportamento meiótico e viabilidade polínica na espécie *Jatropha curcas* L. **Semina**, Londrina, PR, v. 36, n. 1, p. 141-150, 2015.

DIEMER, A. W. Ação antimicrobiana de *Rosmarinus officinalis* e *Zingiber officinale* frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em carne mecanicamente

separada de frango. **Dissertação** – (Biotecnologia), Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, 67 f., 2016. Disponível em: <<https://m.univates.br/bdu/bitstream/10737/1075/1/2016AndreaWolfDiemer.pdf>>.

Acesso em: 4 mar. 2019.

DUARTE, A. F. S. *et al.* O uso de plantas medicinais durante a gravidez e amamentação. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 18, n. 4, p. 126-139, 2018. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/55983/34825>>. Acesso em: 4 jul. 2019.

ESMAEILI, M. *et al.* Improving Storage Stability of Pistachio Oil Packaged in Different Containers by Using Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and Peppermint (*Mentha piperita*) Essential Oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Rafsanjan, Iran, v. 120, n. 4, p. 1-10, 2018. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1002/ejlt.201700432>>. Acesso em: 29 ago. 2018.

FERNANDES, T. C. C; MAZZEO, D. E. C; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent—Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Rio Claro, SP, v. 72, n. 6, p. 1680-1686, 2009.

FIETTO, D. *et al.* Avaliação fitoquímica e atividade antioxidante, antimutagênica e toxicológica do extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* L. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 874-880, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n4/a13v16n4.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2018.

FIORENZA, M. *et al.* Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni). **Iheringia**, v. 71, n. 2, p. 193-200, 2016.

FIGUEIRA, A. C. G. Avaliação das atividades angiogênica/antiangiogênica e mutagênica/antimutagênica do óleo essencial da *Lantana camara* (cambará). **Dissertação** – (Genética), Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia - GO, 84 f., 2017. Disponível em: <<http://tede2.pucgoias.edu.br:8080/handle/tede/3713#preview-link0>>. Acesso em: 12 jun. 2018.

FIGUEREDO, C. A. D; GURGEL, I. G. D; JUNIOR, G. D. G. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 381-400, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/physis/v24n2/0103-7331-physis-24-02-00381.pdf>>. Acesso em: 13 ago. 2018.

FILHO, R. D. S. *et al.* Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles and triggering of defense mechanisms in *Allium cepa*. **Genet. Mol. Biol.**, Curitiba, PR, v. AHEAD, p. 1-12, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-47572019005026101&script=sci_arttext>. Acesso em: 20 mar. 2019.

FISKEJÖ, G. The *Allium test* as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lund, Suécia, v. 102, n. 1, p. 100-112, 1984.

FORMIGHEIRI, F. B. *et al.* Alelopatia de *Ambrosia artemisiifolia* na germinação e no crescimento de plântulas de milho e soja. **Rev. de Ciências Agrárias**, Paraná, v. 41, n. 3, p. 151-160, 2018. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2018000300016>. Acesso em: 25 fev. 2019.

FRANCO, R. R. Avaliação da capacidade antioxidante e antiglicante de plantas medicinais e seu potencial de inibição das enzimas digestivas relacionadas ao *diabetes mellitus* tipo 2. **Dissertação** – (Genética e Bioquímica), Uberlândia, 100 f., 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/22926>>. Acesso em: 11 dez. 2018.

FREITAS, J. A. D. *et al.* Seleção de plantas de tomateiro visando à resistência à artrópodes-praga mediada por zingibereno. **Acta Scientiarum**, Lavras, MG, v. 22, n. 4, p. 919-923, 2000. Disponível em: <<http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/2819/1956>>. Acesso em: 20 set. 2018.

FRESCURA, V. D. *et al.* Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the *Allium cepa* test. **Biocell**, Santa Maria, RS, v. 37, n. 2, p. 23-28, 2013. Disponível

em:

<https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/33272933/Frescura_etal_2013_Biocell.pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DPost-treatment_with_plant_extracts_used.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20190814%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4_request&X->. Acesso em: 27 ago. 2018.

GALTER, I. N. Avaliação da água do Rio Itapemirim/ES: aspectos abióticos e toxicogénicos. **Dissertação** – (Genética), Universidade Federal do Espírito Santo - Alegre, 94 f., 2016.

GHELLER, A. C. G. V. *et al.* Antimutagenic Effect of *Hibiscus sabdariffa* L. Aqueous Extract on Rats Treated with Monosodium Glutamate. **The Scientific World Journal**, Mato Grosso, Sinop, v. 2017, n. 1, p. 1-8, 2017. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1155/2017/9392532>>. Acesso em: 18 dez. 2018.

GOOGLE. **Estrutura do Isopreno.** Disponível em : https://www.google.com/search?q=isopreno&rlz=1C1LENN_enBR602BR602&source=lnms&tbs=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiJvdvH2ljkAhVKA9QKHQ_xBsEQ_AUIESgB&biw=1366&bih=657#imgrc=dvDvMKuPy4v4xM. Acesso em: 20 mar. 2019.

GOOGLE. **Gengibre.** Disponível em: https://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&tbs=simg:CAESrglJahO5v657FuwaogLELCmpwgaYQpfCAMSJ8YJ2AbNCdcG1gPICQzHCckJxAmVlpYipCKRIqwiviGQKZgi1zTCKRowZVJEQRNpu8OwtM007qA0EPDoO96IHQrff5UMH0J_1V4nAgvltzYmMubLS5WQtjPIHIAQMCxCOrv4IGgoKCAgBEgR1IWduDAsQne3BCRqbAQoYCGzNaW5nZXLapYj2AwoKCC9tLzBmOW4zCiMKEGdyZWF0. Acesso em: 3 fev. 2019.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium cepa*: A report of the U.S. Environmental protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, Quebec, Canadá, v. 99, n. 3, p. 273-291, 1982. Disponível em: <[https://sci-hub.tw/10.1016/0165-1110\(82\)90046-x](https://sci-hub.tw/10.1016/0165-1110(82)90046-x)>. Acesso em: 27 ago. 2018.

GROSSMAN, L. **Óleos Essenciais: Na Culinária Cosmética E Saúde.** 1. ed. São Paulo: Optionline, 2005. p. 1-301.

GUIMARÃES, L. G. D. L. *et al.* Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. **Quim. Nova**, Lavras, MG, v. 31, n. 6, p. 1476-1480, 2008. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1590/s0100-40422008000600037>>. Acesso em: 5 mar. 2019.

HSIEH, L. *et al.* Induction of β -phellandrene on autophagy in human liver tumor cells. **The American Journal of Chinese Medicine**, Kaohsiung, Taiwan, v. 43, n. 1, p. 121-136, 2015. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1142/s0192415x15500081>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

HSIEH, S. *et al.* Induction of necrosis in human liver tumor cells by β -phellandrene. **Nutrition and Cancer**, Kaohsiung, Taiwan, v. 66, n. 6, p. 970-979, 2014. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1080/01635581.2014.936946>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

JORGE, M. M. P. Avaliação da fitotoxicidade de compostos orgânicos e da desintegração de materiais: contributo para aferição das normas técnicas: EN 16086-1 e ISO 20200. **Dissertação** – (Engenharia do Ambiente), Universidade Nova de Lisboa, Portugal, 105 f., 2018. Disponível em: <https://run.unl.pt/bitstream/10362/63686/1/Jorge_2018.pdf>. Acesso em: 19 fev. 2019.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Quím. Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000300026>. Acesso em: 12 ago. 2018.

KAPUR, A. *et al.* Modulation of oxidative stress and subsequent induction of apoptosis and endoplasmic reticulum stress allows citral to decrease cancer cell proliferation. **Scientific Reports**, Madison, USA, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4897611/>>. Acesso em: 12 set. 2018.

KRÜGER, R. A. Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa*. **Dissertação** – (Qualidade Ambiental), Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, RS, 58 f., 2009.

Disponível em: <<https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf>>. Acesso em: 21 mar. 2018.

LEÃO, L. L. *et al.* Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos. **Cad. Ciênc. Agra.** Montes Claros, v. 9, n. 1, p. 94-99, 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2951/1788>>. Acesso em: 20 ago. 2018.

LEE, Y. Cytotoxicity evaluation of essential oil and its component from *Zingiber officinale* Roscoe. **Toxicol. Res.**, Coréia, v. 32, n. 3, p. 225-230, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4946420/>>. Acesso em: 20 set. 2018.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. D. F. D; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, Rio Claro, SP, v. 88, n. 4, p. 214-219, 2008. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1016/j.aquatox.2008.04.012>>. Acesso em: 15 ago. 2018.

LIN, J. *et al.* Alpha-phellandrene induced DNA damage and affect DNA repair protein expression in WEHI-3 murine leukemia cells *in vitro*. **Environmental Toxicology**, Taichung, Taiwan, v. 30, n. 11, p. 1322-1330, 2014. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1002/tox.22003>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

LIRA, W. M. Avaliação do potencial mutagênico e antimutagênico de extratos e compostos vegetais obtidos a partir dos gêneros *Byrsonima* e *Davilla*. **Tese – (Análises Clínicas)**, São Paulo, 136 f., 2007.

MACIEL, J. C. *et al.* Interferência de plantas daninhas no crescimento da cultura do trigo. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 23-29, 2017.

MACIEL, M. A. M; PINTO, Angelo C.; JR., V. F. V. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v25n3/9337.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

MAGOSSO, M. F. *Acrocomia aculeata* previne danos toxicogénicos causados pelo agente antitumoral ciclofosfamida. **Dissertação** – (Saúde e Desenvolvimento), Campo Grande, MS, 66 f., 2015.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Mississippi, USA, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1961. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.2135/cropsci1962.0011183x000200020033x>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

MAJOLO, C. *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 16, n. 3, p. 505-512, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000300005>. Acesso em: 13 ago. 2018.

MARMITT, J. *et al.* Plantas Medicinais da RENISUS Com Potencial Anti-inflamatório: Revisão Sistemática Em Três Bases de Dados Científicas. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 2, p. 129-144, 2015. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19230>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

MARTINO, L. D. *et al.* Active caspase-3 detection to evaluate apoptosis induced by *Verbena officinalis* essential oil and citral in chronic lymphocytic leukaemia cells. **Rev. bras. farmacogn.**, Curitiba, v. 12, n. 5, p. 869-873, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2011000500014>. Acesso em: 20 out. 2018.

MARTINS, A. G. L. D. A. Atividade antibacteriana dos óleos essenciais do manjeriço (*Ocimum basilicum* Linnaeus) e do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênicas isoladas de hortaliças. **Tese** – (Toxicologia), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 179 f., 2010. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/4091/1/parte1.pdf>>. Acesso em: 5 mar. 2019.

MASUDA, Y. *et al.* Antioxidant properties of gingerol related compounds from ginger. **Biofactors**, Osaka, v. 21, n. 4, p. 293-296, 2004. Disponível em: <<https://scihub.tw/10.1002/biof.552210157>>. Acesso em: 16 ago. 2018.

MATSUMOTO, S. T. *et al.* Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genet. Mol. Biol.**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 148-158, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-47572006000100028&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em: 8 jun. 2018.

MAURO, M. O. *et al.* Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture. **Genetics and Molecular Research**, Londrina, PR, v. 13, n. 3, p. 4808-4819, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/117560/WOS000340383600011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 20 jun. 2019.

MIND THE GRAPH. **Infographic**. Disponível em: <https://mindthegraph.com/workspace/user-creations/132830>. Acesso em: 24 mai. 2019.

MIRANDA, C. A. S. F. D. *et al.* Análise comparativa do potencial alelopático do óleo essencial de *Thymus vulgaris* e seu constituinte majoritário na germinação e vigor de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **e-xacta**, Lavras, MG, v. 8, n. 2, p. 45-53, 2015.

NASCIMENTO, C. *et al.* Regulamentação e Consumo de Fitoterápicos no Brasil como Prática Complementar de Saúde. **Journal of Nutrology**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p. 67-74, 2018.

OLIVEIRA, J. T. D. Avaliação in vitro da mutagenicidade e antimutagenicidade do fármaco digoxina. **Dissertação** – (Ciências da Saúde), Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei, 105 f., 2016. Disponível em: <<https://www.ufsj.edu.br/portal2->

repositorio/File/ppgcs/Dissertacoes%202016/DissertacaoJuliaTeixeira.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2018.

OSLER, S. W. El Chauvinismo en la medicina. **Rev. Cubana Salud Pública**, Ciudad de La Habana, CU, v. 42, n. 4, p. 1-21, 2016. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=21447534013>>. Acesso em: 18 abr. 2019.

PARK, M.; BAE, J.; LEE, D. Antibacterial activity of [10]-gingerol and [12]-gingerol isolated from ginger rhizome against periodontal bacteria. **Phytother Res**, Coréia do Sul, KOR, v. 22, n. 11, p. 1446-1449, 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.2473>>. Acesso em: 19 jun. 2018.

PASSOS, C. S. *et al.* Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, PB, v. 19, n. 1, p. 140-149, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000100024&lng=en&nrm=iso&tling=pt>. Acesso em: 3 set. 2018.

PASSOS, D. C. S. D. Ação biológica in vitro de tiossemicarbazonas derivadas de canfeno e limoneno em células de melanoma humano (SK-MEL-37). **Tese** – (Biologia), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 84 f., 2013. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/3426?mode=full>>. Acesso em: 8 out. 2018.

PFEIFFER, E. *et al.* Microsomal hydroxylation and glucuronidation of [6]-gingerol.. **J Agric Food Chem.**, Karlsruhe, DE, v. 54, n. 23, p. 8769-8774, 2006. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1021/jf062235l>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

PHARMACOPOEIA, Europea. **EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES & HEARTH**. 4. ed. Strasbourg: CRC Press, 2002. p. 183-184.

PONTES, R. P. S. Síntese e imobilização de nanopartículas de fibroína em substrato têxtil: avaliação da citotoxicidade e adesão celular. **Dissertação** – (Engenharia Mecânica), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 76 f., 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/25786/1/S%c3%adnteseimobili>

za%a7%a3nanopart%adculas_Pontes_2018.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2018.

QUEIROZ, T. C. D. *et al.* Composição Química e Atividade Antioxidante de *Agaricus blazei* e seu Efeito Sobre a Modulação da Mitose. **Journal of Health Sciences**, Campo Mourão, PR, v. 18, n. 2, p. 134-138, 2016.

RAMALHO, M. P. *et al.* Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: revisão de literatura. **Rev. Expr. Catól. Saúde**, Ceará, v. 3, n. 2, p. 1-7, 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/329722838_PLANTAS_MEDICINAIS_NO_PROCESSO_DE_CICATRIZACAO_DE_FERIDAS_REVISAO_DE_LITERATURA>. Acesso em: 15 jan. 2019.

REZENDE, C. D. O. Avaliação ambiental do Córrego Brejo Alegre, em Araguari (MG), utilizando *Allium cepa* e *Astyanax altiparanae* como sistemas-teste. **TCC – (Engenharia Ambiental)**, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 26 f., 2018.

ROBERTO, M. M. *et al.* Evaluation of the genotoxicity/mutagenicity and antigenotoxicity/antimutagenicity induced by propolis and *Baccharis dracunculifolia*, by in vitro study with HTC cells. **Toxicology in Vitro**, v. 33, p. 9-15, 2016.

RODRIGUES, G. Z. P; DALZUCHIO, T.; GEHLEN, G. Uso do bioensaio com *Allium cepa* L. e análises físico-químicas e microbiológicas para avaliação da qualidade do Rio da Ilha, RS, Brasil. **Acta Toxicol. Argent.**, Novo Hamburgo, RS, v. 24, n. 2, p. 101-108, 2016.

ROSA, C. D.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, Canoas, RS, v. 16, n. 1, p. 311-318, 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.org/pdf/csc/2011.v16n1/311-318/pt>>. Acesso em: 16 mai. 2019.

ROSA, L. A. D. L.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALEZ-AGUILAR, G. A. **Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value and Stability**. 1. ed. Iowa, USA: Wiley-Blackwell, 2010. p. 1-384.

SANTOS, A. *et al.* Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, PR, v. 19, n. 2, p. 436-441, 2009. Disponível em: <https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/42579341/Determinao_do_rendimento_e_atividade_ant20160211-9848-4q39vq.pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DDeterminacao_do_rendimento_e_atividade_a.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20190815>. Acesso em: 5 mar. 2019.

SANTOS, N. C. N. D. Avaliação da genotoxicidade e da citotoxicidade de produtos utilizados na terapia pulpar de dentes decíduos com o uso do teste de micronúcleo em medula óssea de camundongos e do ensaio cometa em linfócitos humanos. **Tese** – (Biotecnologia), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 94 f., 2015. Disponível em: <<http://tede2.uefs.br:8080/handle/tede/190#preview-link0>>. Acesso em: 15 set. 2018.

SHIN, Y.; LEE, Y. Cytotoxic activity from *Curcuma zedoaria* through mitochondrial activation on ovarian cancer cells. **Toxicological Research**, Busan, Korea, KOR, v. 29, n. 4, p. 257-261, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3936178/>>. Acesso em: 18 jun. 2019.

SIANI, A. C. *et al.* Óleos essenciais: Potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 38-43, 2000. Disponível em: <<http://s.terceiravia.org.br/wp-content/uploads/2011/07/leos-essenciais1.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

SIDRA/IBGE. **Censo Agro de 2017**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/2235#resultado>. Acesso em: 18 set. 2018.

SILVA, A. A. D. *et al.* Atividade microbiológica de óleos essenciais obtidos por arraste a vapor. **Revista Uningá Review**, Maringá, PR, v. 20, n. 3, p. 33-39, 2018. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1604/1214>>. Acesso em: 4 mar. 2019.

SILVA, D. C. D. Atividade alelopática de diferentes partes vegetais de *Achillea millefolium* L. e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. e *Cucumis sativus* L.. **Dissertação** – (Agronomia), Pelotas, RS, 103 f., 2018. Disponível em: <<http://repositorio.ufpel.edu.br:8080/bitstream/prefix/3767/1/Disserta%c3%a7%c3%a3o%20Di%c3%b4nvera.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2019.

SILVA, L. D. P. D.; RECK, R. T.; FONSECA, F. N. D. Desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas a partir de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). **Saúde E Meio Ambiente**, Concórdia, SC, v. 5, n. 2, p. 82-92, 2016. Disponível em: <<file:///C:/Users/Monick/Downloads/1069-Texto%20do%20artigo-5451-1-10-20161216.pdf>>. Acesso em: 5 mar. 2019.

SILVA, M. I. D; OLIVEIRA, H. B. D. Development of software with guidelines on the use of medicinal plants most used in the south of Minas Gerais. **Brazilian Applied Science Review**, Curitiba, v. 2, n. 3, p. 1104-1110, 2018. Disponível em: <<http://www.brjd.com.br/index.php/BASR/article/view/492/425>>. Acesso em: 5 nov. 2018.

SILVA, W. J. M. D; FERRARI, C. K. B. Metabolismo Mitocondrial, Radicais Livres e Envelhecimento. **REV. BRAS. GERIATR. GERONTOL**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 441-451, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpg/v14n3/v14n3a05.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2018.

SIMÕES, M. S. *et al.* Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, Alfenas, v. 26, n. 3, p. 29-36, 2013. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2013v26n3p29/25297>>. Acesso em: 12 fev. 2019.

SIQUEIRA, H. D. S. *et al.* β -Phellandrene, a cyclic monoterpene, attenuates inflammatory response through neutrophil migration inhibition and mast cell degranulation. **Life Sciences**, Fortaleza, CE, v. 160, n. 1, p. 27-33, 2016. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320516304180?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 set. 2018.

SOARES, A. K. *et al.* Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, PB, v. 16, n. 4, p. 447-454, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2006000400002>. Acesso em: 16 jun. 2018.

SOARES, P. R. O. Antiproliferative Activity Benzaldehyde Camphene Thiosemicarbazone in Human Melanoma Cells (SK-MEL-37). **Dissertação** – (Ciências Biológicas), Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 71 f., 2008. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tde/1274>>. Acesso em: 13 set. 2001.

SOUSA, L. S. *et al.* Estudo prospectivo sobre as propriedades terapêuticas do *Zingiber officinale* (gingibre) com ênfase na ação antimicrobiana. **Revista GEINTEC**, São Cristovão, SE, v. 3, n. 5, p. 427-436, 2013.

SUEKAWA, M. *et al.* Pharmacological studies on ginger. I. Pharmacological actions of pungent constituents, (6)-gingerol and (6)-shogaol.. **Journal of pharmacobio-dynamics**, Japão, v. 7, n. 11, p. 836-848, 1984. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb1978/7/11/7_11_836/_article/-char/ja/>. Acesso em: 12 jul. 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p. 1-918.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. **Essential oil safety**: a guide for health care professionals. 2. ed. Londres: Churchill Livingstone, 2014. p. 784.

TOHMA, H. *et al.* Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. **Journal of Food Measurement and Characterization**, New York, v. 11, n. 2, p. 556-566, 2016. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1007/s11694-016-9423-z>>. Acesso em: 17 mai. 2018.

TRAUTMANN, N. M.; KRASNY, M. E. **Composting in the Classroom**: Scientific Inquiry for High School Students. 1. ed. New York: Hunt Publishing Company, 1998. p. 1-116.

TURKEZ, H. *et al.* Neuroprotective effects of farnesene against hydrogen peroxide-induced neurotoxicity *in vitro*. **Cellular and Molecular Neurobiology**, Turkey, v. 34, n. 1, p. 101-111, 2013. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1007/s10571-013-9991-y>>. Acesso em: 19 set. 2018.

TYAGI, A. K. *et al.* Identification of a novel compound (β -sesquiphellandrene) from turmeric (*Curcuma longa*) with anticancer potential: comparison with curcumin. **Investigational New Drugs**, Houston, USA, v. 33, n. 6, p. 1175-1186, 2015. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1007/s10637-015-0296-5>>. Acesso em: 18 set. 2018.

VALENTE, D. *et al.* Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. **Revista Brasileira De Saúde Ocupacional**, Rio de Janeiro, RJ, v. 42, n. 1, p. 1-12, 2016. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/10.1590/2317-6369000124415>>. Acesso em: 24 set. 2018.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, Araraquara, SP, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2006. Disponível em: <http://200.145.71.150/seer/index.php/Cien_Farm/article/view/355/340>. Acesso em: 18 jan. 2019.

VICENTINI, V. E. P. *et al.* *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and animal test systems. **Acta Scientiarum**, Maringá, PR, v. 23, n. 2, p. 593-598, 2001. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Mario_Mantovani2/publication/285706767_Ave>

rrhoa_carambola_L_Syzygium_cumini_L_Skeels_and_Cissus_sicyoides_L_Medicinal_herbal_tea_effects_on_vegetal_and_test_systems/links/566ec90a08ae1a797e40763a.pdf>. Acesso em: 27 set. 2018.

VIDAL, P. C. L.; FREITAS, G. Estudo da antioxidação celular através do uso da vitamina C. **Revista UNINGÁ Review**, Ingá, v. 21, n. 1, p. 60-64, 2014. Disponível em: <https://www.mastereditora.com.br/periodico/20150101_115306.pdf>. Acesso em: 19 jan. 2018.

VIEIRA, A. R. *et al.* Fruits, vegetables, and bladder cancer risk: a systematic review and meta-analysis. **Cancer Medicine**, London, UK, v. 4, n. 1, p. 136-146, 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/cam4.327>>. Acesso em: 12 jul. 2018.

VIEIRA, N. A. *et al.* Efeito anti-inflamatório do gengibre e possível via de sinalização. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, PR, v. 35, n. 1, p. 149-162, 2014. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/17125/15833>>. Acesso em: 16 ago. 2018.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais**: sob a ótica da química medicinal moderna. 1. ed. Chapecó: Argos, 2001. p. 1-523.

YUNES, R. A. **Química de produtos naturais**: Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia. 4. ed. Itajaí: Univali, 2014. p. 1-492.