











## Ação profilática do isotônico feito a partir das cascas do fruto da *Oenocarpus bacaba* Mart. (Arecaceae) contra o estresse oxidativo induzido por ciclofosfamida em camundongos

Valéria Dornelles Gindri SINHORIN<sup>1,2\*</sup> , Tatiane Cordeiro LUIZ<sup>2</sup> , Luana Baldissera<sup>2</sup> ,  
Ana Paula Simões da CUNHA<sup>2</sup> , Wesley Bressan dos SANTOS<sup>3</sup> , Ana Júlia Lopes BRAGA<sup>3</sup> ,  
Marina Mariko SUGUI<sup>2,3</sup> , Dênia Mendes de Sousa VALLADÃO<sup>2,3</sup> 

<sup>1</sup>Instituto de Ciências da Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

<sup>3</sup>Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

\*E-mail: [valeria.sinhorin@ufmt.br](mailto:valeria.sinhorin@ufmt.br)

Submetido em 25/04/2023; Aceito em 10/08/2023; Publicado em 17/08/2023.

**RESUMO:** O isotônico é uma bebida esportiva destinada a atletas. De modo geral apresenta corantes sintéticos na sua composição, e estes por sua vez podem trazer malefícios a saúde e ao meio ambiente, por isso tem se discutido a substituição de corantes sintéticos por corantes de fonte naturais. Este estudo teve como objetivo investigar o efeito profilático do isotônico produzido a partir da casca do fruto *Oenocarpus bacaba* sobre o estresse oxidativo em camundongos induzidos pela ciclofosfamida (CYP), bem como avaliação da atividade antimutagênica. Os animais receberam 15 dias de tratamento com o isotônico (solução 2%) e injeção intraperitoneal de CYP (100 mg kg<sup>-1</sup>) ou soro fisiológico (0,9%) no 15º dia e eutanásia no 16º dia para retirada do fígado e da medula óssea para análises. O isotônico causou alterações positivas nos antioxidantes enzimático (superóxido dismutase, SOD) e não enzimático (ácido ascórbico, ASA), mas promoveu a redução da glutathione reduzida (GSH) e foi antimutagênico no teste do micronúcleo. O estudo mostrou que o isotônico foi benéfico contra eventos oxidativos e preveniu danos ao DNA.

**Palavras-chave:** antimutagênica; antioxidante; antocianinas; fruto amazônico; nutracêutica.

### Prophylactic action of isotonic made from the peels of *Oenocarpus bacaba* Mart. (Arecaceae) fruit against oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice

**ABSTRACT:** Isotonic is a sports drink intended for athletes. In general, it has synthetic dyes in its composition, and these, in turn, can harm health and the environment, so the replacement of synthetic dyes by natural source dyes has been discussed. This study aimed to investigate the prophylactic effect of the isotonic produced from the peel of the *Oenocarpus bacaba* fruit on oxidative stress in mice induced by cyclophosphamide (CYP), as well as to evaluate the antimutagenic activity. The animals received 15 days of isotonic treatment (solution 2%) and intraperitoneal injection of CYP (100 mg kg<sup>-1</sup>) or saline solution (0.9%) on the 15<sup>th</sup> day and euthanasia on the 16<sup>th</sup> day to remove the liver and bone marrow for analyses. The isotonic caused positive changes in enzymatic (superoxide dismutase, SOD) and non-enzymatic (ascorbic acid, ASA) antioxidants, but promoted the reduction of glutathione (GSH) and was antimutagenic in the micronucleus test. The study showed that isotonic protects against oxidative events and prevents DNA damage.

**Keywords:** antimutagenic; antioxidant; anthocyanins; Amazonian fruit; nutraceuticals.

## 1. INTRODUÇÃO

O isotônico é uma bebida esportiva muito consumida por atletas e é constituída por água, sais minerais e carboidratos. Sua função é repor eletrólitos e reidratar praticantes de exercícios físicos mais intensos durante ou após atividade física. Os eletrólitos mais importantes para o organismo são, o Sódio (Na), Cloreto (Cl), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e o Fósforo (P). Além disso, o isotônico possui substâncias semelhantes a fluidos corporais e osmolaridade similar à do tecido hematopoiético, o que facilita sua absorção e restauração hídrica (BRITO; MARINS, 2005).

Os corantes sintéticos estão presentes em boa parte dos alimentos industrializados e em bebidas, como os isotônicos

e, estes são aplicados com intuito de modificar a cor natural para que este seja melhor aceito pelo mercado consumidor. Também se justifica o uso dos corantes artificiais por apresentarem menores custos e maior estabilidade (CONSTANT et al., 2002). Entretanto, há uma preocupação quando se trata dos corantes sintéticos, pois sua função é apenas estética, não tem valor nutritivo e estudos vem demonstrando seu potencial alergênico, tóxico, mutagênico (HAMERSKY et al., 2013) e carcinogênico (POLÔNIO; PERES, 2009). Além disso, podem levar a broncoconstrição e hiperatividade em crianças (ANASTÁCIO et al., 2016). Ainda, podendo causar danos ambientais através dos efluentes gerados pela indústria alimentícia, onde essas substâncias são capazes de alterar o pH de cursos d'água,

depleção do Oxigênio dissolvido e modificação na vida aquática local (MARMITT et al., 2010).

Na perspectiva de substituir os corantes sintéticos presentes nos isotônicos por uma alternativa mais saudável, há um movimento “verde” para utilizar corantes naturais presentes em uma grande variedade de espécies vegetais, onde é naturalmente produzido pelo vegetal e encontrado no metabolismo secundário como as antocianinas (MARÇO et al., 2008).

As antocianinas vêm sendo estudadas como uma fonte de corante natural para uso em alimentos, sendo elas as responsáveis pelos tons que vão desde a coloração vermelha ao azul (LOPES et al., 2007). Sua ação vai muito além de corante, pois a esses pigmentos também são atribuídas funções farmacológicas, como ação antidiabética, anticâncer, anti-inflamatória, antimicrobiana, bem como na prevenção de doenças cardiovasculares. Além disso, por ser um antioxidante, pode atuar sobre o estresse oxidativo eliminando os radicais livres, fornecendo proteção contra a clivagem do DNA, dentre outras biomoléculas e a diminuição da peroxidação lipídica (KHOO et al., 2017).

A flora Amazônica ainda é pouco explorada, quanto a espécies frutíferas em que o grupo de antocianinas é utilizado. Os frutos amazônicos são então uma proposta para substituir os corantes sintéticos, tal como o *Oenocarpus bacaba* (*O. bacaba*), conhecida popularmente por “bacaba”, inserida entre as espécies do gênero *Oenocarpus*. *O. bacaba* é uma espécie de palmeira que apresenta grande potencial econômico devido a exploração do palmito e dos seus frutos, além da sua utilização como corante natural. Seus frutos apresentam cor púrpura quando maduros e atualmente têm despertado interesse por estudos com atividade antioxidante devido a presença de compostos fenólicos (CARVALHO et al., 2016; CORRÊA et al., 2018).

Além disso, a indústria de processamento de sucos de frutas gera grande volume de resíduos como cascas e sementes, subprodutos que podem conter em seus extratos quantidades consideráveis de compostos bioativos (GOOT et al., 2016; BATAGLION et al., 2015) que podem ser agregados a usos medicinais e garantir menores desperdícios, aumentando seu valor para aqueles que buscam um melhor desempenho, como os praticantes de esportes e atividades físicas intensas, e para uma dieta mais saudável.

Pensando em suas propriedades como corante natural em isotônicos e seu potencial antioxidante, a espécie *O. bacaba* foi utilizada para o preparo de uma formulação a partir de suas cascas e posterior avaliação antioxidante, sendo administrada em camundongos para investigar a quimioproteção sobre ciclofosfamida. Vale ressaltar que, até o momento, não há trabalhos usando esse fruto com ação antioxidante em testes *in vivo*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Produtos químicos

Ciclofosfamida (CP) - Baxter, Triton X-100, albumina de soro bovino, peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), glutatona reduzida (GSH), ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB), reagente de Bradford, ácido tricloroacético (TCA), fosfato de potássio monobásico, fosfato de potássio dibásico, fosfato de sódio monobásico, fosfato de sódio dibásico, sal dissódico do ácido etilendiaminotetracético (EDTA), trisaminometano (Tris), malondialdeído (MDA), dodecil sulfato de sódio (SDS), 2,4

dinitrofenil-hidrazina (DNPH), todos adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Os solventes utilizados para os testes foram todos de grau P.A - ACS da Merck.

### 2.2. Matéria-prima e procedimentos iniciais

Uma amostra vegetal de *O. bacaba* foi coletada, herborizada e identificada. A exsicata foi depositada no Herbário Acervo Biológico da Amazônia Meridional (ABAM), Câmpus de Sinop, Estado do Mato Grosso, Brasil, sob o número de registro Voucher 6673.

Os frutos foram coletados na zona rural do município de Tabaporã, Mato Grosso, Brasil, sob as coordenadas geográficas (latitude: -11.2278, longitude: -56.8139) e foram transportados para o Laboratório de Controle de Qualidade da Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus de Sinop, onde foram lavados, sanitizados e enxaguados. Após o processo de limpeza dos frutos, as cascas foram retiradas e levadas à estufa com circulação forçada de ar, a aproximadamente 40 °C, por 36 h, com o objetivo de eliminar a umidade. Após esse período, as amostras foram trituradas em moinho analítico e em seguida, foram armazenados a -20 °C.

### 2.3. Preparo do extrato da casca de *O. bacaba*

O extrato da casca de *O. bacaba* foi obtido de acordo com Porfírio et al. (2019). A produção utilizou cerca de 5 g de casca processada. Inicialmente, o material foi triturado em processador para alimentos e adicionado solução hidroetanólica 70% (v/v) (1:2 cascas/solventes), seguida de acidificação com solução aquosa de ácido cítrico 6% (m/v), até pH 2,0. Essa suspensão foi mantida em repouso com ausência de luz e em refrigeração (4 °C ± 1 °C) por 24 h. O extrato foi então filtrado em tecido de nylon e concentrado até a eliminação total do solvente em estufa de circulação de ar forçada a 40 °C. Seu armazenamento foi feito em frasco âmbar, em temperatura de refrigeração (4 °C), até análises.

### 2.4. Formulação e preparo da bebida isotônica

Para a elaboração da bebida isotônica, foram realizados testes preliminares, em laboratório, com várias misturas de sais, extrato concentrado de casca de bacaba e aromatizantes, de modo a obter uma bebida de concentração osmótica dentro dos padrões da legislação de bebidas para atletas (BRASIL, 2010).

O preparo da formulação base da bebida isotônica procedeu-se conforme Santos et al. (2013), no qual fez-se a dissolução dos ingredientes em água deionizada, a saber: 0,3 g de cloreto de sódio, 40 g de sacarose, 0,2 g citrato de sódio, 22 g de maltodextrina sem sabor e 0,7 g de ácido cítrico para cada litro da bebida.

### 2.5. Animais e protocolo experimental

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) - UFMT sob o número de protocolo 23108.724839/2017-91. Foram utilizados camundongos machos Swiss, peso médio 30 – 40 g. Durante o período de aclimação (2 semanas) e todo o período experimental, os animais foram mantidos em caixas de polietileno e grades de aço inoxidável e permaneceram sob condições controladas de temperatura (22 ± 2 °C), umidade relativa (55 ± 10%), ciclo claro (12 horas claro/escuro), dieta com ração comercial e água filtrada *ad libitum*. Os animais receberam tratamento via oral (água ou isotônico - 300 µL) por 15 dias consecutivos

e uma injeção intraperitoneal de ciclofosfamida (CYP) ou NaCl 0,9% no 15º dia. A droga usada para indução de danos ao DNA – a CYP, foi administrada na concentração de 100 mg kg<sup>-1</sup> em dose única (CASANOVA et al., 2017). Quanto ao isotônico (ISO), foi administrado uma concentração de 2% da casca de *O. Bacaba*. Para os testes *in vivo*, foram utilizados 4 grupos com 8 animais cada (Figura 1):

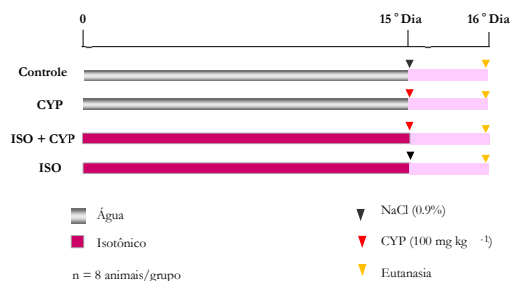


Figura 1. Delineamento experimental para avaliação de efeitos antioxidantes e antimutagênicos.

Figure 1. Experimental design to evaluate antioxidant and antimutagenic effects.

Após 24 h ao tratamento com CYP ou NaCl 0,9%, os animais foram anestesiados intraperitonealmente com cetamina 50 mg kg<sup>-1</sup>, xilaxina 20 mg kg<sup>-1</sup> e acepromazina 20 mg kg<sup>-1</sup>, e então foram eutanasiados para retirada do fêmur (coleta de medula óssea para esfregaço) e fígado, que foi congelado a -80 °C para realização das análises bioquímicas.

## 2.6. Teste de micronúcleo

### 2.6.1. Preparo das amostras e lâminas

Após a eutanásia dos animais, foram retirados os fêmures para coleta de medula óssea e confecção de esfregaços, conforme metodologia proposta por MacGregor et al. (1987).

### 2.6.2. Análise das lâminas

Foi avaliada a frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (PCEMN) para verificação de danos ao DNA. Para isso, foram analisados 2.000 eritrócitos policromáticos por animal, com 1.000 células em cada lâmina (lidas em duplicata), conforme metodologia de MacGregor et al. (1987). A observação foi realizada sob teste cego usando microscópio óptico com ampliação de 1.000x.

Para verificar o percentual de redução de danos, ou seja, a diminuição da frequência média de células micronucleadas, foi utilizada a fórmula proposta por de Manoharan; Banerjee (1985) e Waters et al. (1990), como mostrado abaixo (Equação 1):

$$(\%) \text{ redução} = \frac{(\text{freq em } A - \text{freq em } B)}{(\text{freq em } A - \text{freq em } C)} \times 100 \quad (01)$$

em que: *freq em* = frequência de Micronúcleos em: *A* = corresponde ao grupo CYP (controle positivo); *B* = grupo de análise (grupo recebendo o isotônico e CYP) e *C* = grupo controle negativo.

## 2.7. Análises bioquímicas

### 2.7.1. Atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD nas amostras de homogeneizados de fígado foi determinada à 26 °C, fazendo uma curva de substrato (enzima presente) contendo tampão glicina 50 mM e bitartarato de adrenalina. A velocidade de formação de

adrenocromo foi monitorada espectrofotometricamente a 480 nm, sendo o resultado expresso UI SOD. mg proteína<sup>-1</sup> (MISRA; FRIDOVICH, 1972).

### 2.7.2. Atividade da catalase (CAT)

Foi utilizado um meio reacional contendo 1,0 mL de tampão fosfato de potássio (TFK) 50 mM (pH 7,0), 0,025 mL de homogeneizado de fígado e 0,025 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,3 M. A mudança da absorbância do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no tempo de 60 s foi monitorada por espectrofotometria a 240 nm e a atividade da CAT expressa em μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumido min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup> (NELSON; KIESOW, 1972).

### 2.7.3. Atividade da glutatona-S-transferase (GST)

A atividade da GST foi quantificada em homogeneizado de fígado por meio da formação de S-2,4-dinitrofenil glutatona em espectrofotômetro, lida em 340 nm e monitorada em intervalos de 10 segundos durante 1 minuto, e a atividade expressa em μmol GS-DNB min<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup> (HABIG et al., 1974).

### 2.7.4. Concentração de glutatona reduzida (GSH)

Para homogeneização do tecido hepático usou-se sal dissódico de EDTA e no preparo final das amostras adicionou-se o ácido tricloroacético (TCA) 50% (m/v). Para a leitura das amostras uma alíquota foi acrescida de Tris 0,4 M (Trizma) pH 8,9 e DTNB (ácido 5,5 ditiobis-2-nitrobenzoico). A formação do ânion tiolato de anilida foi avaliada em 412 nm e comparada a uma curva padrão de GSH. O resultado foi expresso em μmol GSH mg proteína<sup>-1</sup> (SEDLACK; LINDSAY, 1968).

### 2.7.5. Quantificação de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Amostras de fígado foram incubadas (30 min, 100 °C) num meio reacional contendo TCA 10% (m/v) e TBA 0,67% (m/v). A leitura foi realizada a 535 nm após resfriamento e centrifugação (10 min à 4000 rpm). Os resultados foram comparados a uma curva de calibração de MDA 0,03 mM e a quantidade de peroxidação lipídica foi expressa em nmol MDA mg proteína<sup>-1</sup> (BUEGE; AUST, 1978).

### 2.7.6. Determinação de ácido ascórbico (ASA)

O meio reacional continha a amostra de fígado, TCA e DNPH em meio ácido, que foram incubados em banho maria a 37 °C por 3 horas. Após, houve interrupção da reação pela adição de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 65% (v/v) e a leitura espectrofotométrica a 520 nm foi realizada e comparada com uma curva de calibração do padrão analítico de ASA. O resultado foi expresso em μmol ASA g<sup>-1</sup> tecido (ROE, 1954).

### 2.7.7. Concentração de proteínas carboniladas (Carbonil)

Os homogeneizados foram preparados em Tris/HCl 10 mM (pH 7,4), no processo são formados pellets que posteriormente são ressuspensos em tampão de desnaturação (SDS) para leitura em 370 nm. Os resultados foram expressos em nmol de carbonil mg proteína<sup>-1</sup> (YAN et al., 1995).

### 2.7.8. Conteúdo proteico

O conteúdo proteico das análises foi determinado pelo método de Bradford (1976) com leituras em 595 nm sendo o

padrão analítico para construção da curva de calibração a albumina bovina e os resultados expressos em mg proteína<sup>-1</sup>.

### 2.8. Análise estatística

Os resultados bioquímicos obtidos (média ± desvio padrão) foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguida do teste de *Tukey* para verificar as diferenças entre os grupos experimentais. Em todos os casos, foi estabelecido um nível de significância para rejeição da hipótese nula de 5% ( $P < 0,05$ ). Para o teste do micronúcleo, foi utilizado o teste do qui-quadrado de acordo com Pereira et al. (1991).

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Parâmetros bioquímicos enzimáticos

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados das atividades de três enzimas antioxidantes analisadas no tecido hepático. Respectivamente, a SOD apresentou aumento significativo ( $P < 0,05$ ) nos grupos CYP, ISO+CYP e no grupo ISO em relação ao controle. Neste último grupo, houve uma diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) da atividade desta enzima quando comparado ao grupo ISO + CYP. Nas análises da atividade da CAT houve apenas uma diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) de sua atividade no grupo CYP em comparação com o controle. Quanto a atividade da enzima GST não houve diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 1. Efeito profilático do ISO feito a partir de casca de *O. bacaba* (solução 2%) no estresse oxidativo induzido por CYP (100 mg kg<sup>-1</sup>) para avaliação de antioxidantes enzimáticos no tecido hepático.

Table 1. Prophylactic effect of ISO made from *O. bacaba* bark (2% solution) on CYP-induced oxidative stress (100 mg kg<sup>-1</sup>) for evaluation of enzymatic antioxidants in liver tissue.

Tratamentos	SOD	CAT	GST <sup>†</sup>
	(UI SOD mg proteína <sup>-1</sup> )	( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ consumido min <sup>-1</sup> mg proteína <sup>-1</sup> )	( $\mu\text{mol GS-DNB min}^{-1}$ mg proteína <sup>-1</sup> )
Controle	11,45 ± 1,50	3,49 ± 0,52	0,66 ± 0,14
CYP	15,20 ± 1,87*	2,84 ± 0,23*	0,71 ± 0,13
ISO + CYP	15,85 ± 1,29*	3,08 ± 0,37	0,59 ± 0,13
ISO	13,73 ± 0,64*#	3,48 ± 0,64	0,67 ± 0,14

Anova seguida pelo teste de *Tukey* (n = 8). \* $P < 0,05$  comparado ao controle. #  $P < 0,05$  comparado ao grupo ISO + CYP.

### 3.2. Parâmetros bioquímicos não enzimáticos e avaliação de danos oxidativos

Foram avaliados parâmetros não enzimáticos e marcadores do estresse oxidativo, onde foi verificado um decréscimo significativo ( $P < 0,05$ ) no conteúdo da GSH nos grupos CYP, ISO + CYP e ISO comparados com o grupo controle (Tabela 2A). A vitamina C (ASA) teve aumento significativo  $P < 0,05$  no grupo ISO + CYP comparado com grupo controle e com o grupo CYP (Tabela 2A). Não houve diferenças significativas no marcador de proteínas carboniladas e da peroxidação lipídica (TBARS) (Tabela 2B).

### 3.3. Avaliação Antimutagênica

Na análise da medula óssea para verificar a frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (PCEMN), foi observado um aumento significativo na quantidade de micronúcleos (MN) no grupo CYP em relação ao grupo controle e uma diminuição significativa ( $P < 0,001$ ) na frequência de MN no grupo ISO + CYP comparando com grupo CYP, sugerindo uma atividade antimutagênica. Por outro lado, também foi observado um aumento significativo

no grupo tratado somente com o isotônico (ISO) em relação ao grupo controle, mostrando um potencial mutagênico.

Tabela 2A. Efeito profilático do ISO feito a partir de casca de *O. bacaba* (solução 2%) no estresse oxidativo induzido por CYP (100 mg kg<sup>-1</sup>) para avaliação de marcadores não enzimáticos no tecido hepático, GSH e ASA.

Table 2A. Prophylactic effect of ISO made from *O. bacaba* bark (2% solution) on oxidative stress induced by CYP (100 mg kg<sup>-1</sup>) for evaluation of non-enzymatic markers in liver tissue, GSH and ASA.

Tratamentos	GSH	ASA
	( $\mu\text{mol. min}^{-1}$ .mg proteína <sup>-1</sup> )	( $\mu\text{mol ASA. g}^{-1}$ tecido)
Controle	52,22 ± 9,45	0,32 ± 0,03
CYP	36,11 ± 6,54*	0,37 ± 0,03
ISO + CYP	27,49 ± 5,93*	0,43 ± 0,06*#
ISO	23,32 ± 4,89*	0,38 ± 0,04

Anova seguida pelo teste de *Tukey* (n = 8). \* $P < 0,05$  comparado ao controle. #  $P < 0,05$  comparado ao grupo CYP.

Tabela 2B. Efeito profilático do ISO feito a partir de casca de *O. bacaba* (solução 2%) no estresse oxidativo induzido por CYP (100 mg kg<sup>-1</sup>) para avaliação de marcadores de danos lipídico e proteico no tecido hepático, TBARS e Carbonil.

Table 2B. Prophylactic effect of ISO made from *O. bacaba* bark (2% solution) on oxidative stress induced by CYP (100 mg kg<sup>-1</sup>) for the evaluation of markers of lipid and protein damage in liver tissue, TBARS and Carbonil.

Tratamentos	TBARS	Carbonil
	(nmol MDA mg proteína <sup>-1</sup> )	( $\mu\text{mol Carbonil g}^{-1}$ tecido)
Controle	7,57 ± 0,87	2,50 ± 0,43
CYP	9,08 ± 2,04	2,33 ± 0,50
ISO + CYP	8,55 ± 1,85	2,85 ± 0,71
ISO	6,49 ± 1,33	2,56 ± 0,53

Anova seguida pelo teste de *Tukey* (n = 8).  $P > 0,05$ .

Tabela 3. Frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (PCEMN) em medula óssea de camundongos *Swiss* machos tratados com isotônico elaborado a partir de casca de *O. bacaba* e ciclofosfamida.

Table 3. Frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes (PCEMN) in bone marrow of male Swiss mice treated with isotonic made from *O. bacaba* bark and cyclophosphamide.

Tratamentos	PCE analisados	PCEMN	% De Redução
Controle <sup>a</sup>	15.600	559	
CYP <sup>b</sup>	15.500	1179	
ISO + CYP	15.800	979**	32,25
ISO	15.000	613*	

<sup>a</sup> Controle negativo; <sup>b</sup> Controle positivo, 100 mg.kg<sup>-1</sup>. \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,001$ . Teste do Qui-quadrado (n = 8).

## 4. DISCUSSÃO

A geração contínua de radicais livres cumpre funções biológicas relevantes. Vale ressaltar que seus benefícios ocorrem quando estão em concentrações moderadas, sua participação acontece em mecanismos de defesa durante processo infeccioso, no relaxamento vascular, na sinalização celular e na apoptose (BARBOSA et al., 2010; WU et al., 2013). No metabolismo aeróbico é comum a formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO e ERN), o fato é que se verificou que muitas doenças estão associadas ao estresse oxidativo (EGEA et al., 2017). O estresse oxidativo conduz à oxidação de biomoléculas, e, em consequência, favorece o desenvolvimento de algumas doenças tais como, aterosclerose, diabetes, obesidade, envelhecimento, doenças neurodegenerativas, doenças cardiovasculares e até o câncer (FIRUZI et al., 2011). Para

combater danos oxidativos, nosso organismo desenvolveu um sistema de defesa antioxidante enzimático e não enzimático que ajuda no equilíbrio redox, no entanto uma extensa produção de espécies reativas pode sobrecarregar esses mecanismos de defesa (BIRBEN et al., 2012).

No campo da medicina preventiva, tem-se pesquisado novos meios para combater os danos causados pelas espécies reativas e, nessa perspectiva, este trabalho avaliou o potencial antioxidante e antimutagênico de um isotônico preparado usando como corante natural as substâncias obtidas das cascas de *O. bacaba* para tratar camundongos submetidos a estresse oxidativo induzido pela droga mutagênica ciclofosfamida.

No que tange os resultados obtidos, a CYP induziu a diminuição significativa na dose de 100 mg kg<sup>-1</sup> ( $P < 0,05$ ) na atividade da enzima da catalase no tecido hepático, isso porque o aumento das espécies reativas causados pela CYP demanda muito das enzimas antioxidantes, podendo acarretar na diminuição das mesmas (ANGIE et al., 2014). Igualmente foi observada a diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) do conteúdo da GSH no tecido hepático, substância esta reconhecida como o antioxidante mais afetado pelos metabólitos tóxicos da ciclofosfamida, pois liga-se à acroleína (metabólito gerado pela CYP) de forma irreversível, inativando-a (MOGHE et al., 2015). O decréscimo da catalase e da GSH está de acordo com outros trabalhos, como de Nafees et al. (2015), com ratos *Wistar* na dose de 150 mg kg<sup>-1</sup> e Basu et al. (2015) que trataram camundongos Swiss com CYP na dose de 25 mg kg<sup>-1</sup> obtendo as mesmas diminuições.

Contudo, a atividade da SOD teve aumento significativo ( $P < 0,05$ ) no grupo CYP, um efeito inesperado, pois diante de situações de estresse oxidativo as enzimas primárias, como é caso da SOD, tendem a sofrer uma depleção devido uma sobrecarga no sistema redox (FAHMY et al., 2016). No entanto, outro trabalho teve a mesma resposta no tecido hepático (CASANOVA et al., 2017) em camundongos tratados utilizando a mesma dose de 100 mg kg<sup>-1</sup>. É importante destacar que neste mesmo trabalho, os valores encontrados para as atividades da SOD em diferentes tecidos tiveram diferentes desfechos. Como é o caso das análises dos eritrócitos em que houve uma diminuição da SOD, mas na medula óssea houve um aumento desta atividade, isso mostra que é possível diferentes tecidos reagirem de modo distinto, podendo elevar a produção da SOD para combater os efeitos nocivos das espécies reativas.

Em adição, o teste de micronúcleo apontou um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) do número de micronúcleos em eritrócitos policromáticos no grupo CYP em comparação ao controle, resultado já observado nos trabalhos de nosso grupo de pesquisa (BARBOSA et al., 2018; GODOY et al., 2019; DA CUNHA et al., 2022; LUIZ et al., 2020a, 2020b; BRAGANTE et al., 2022) em células da medula óssea de camundongos nas doses variando de 25 à 100 mg kg<sup>-1</sup>. Os resultados mostram que há dano no DNA induzido pela CYP, isso porque ao ser metabolizada no fígado pelas enzimas do citocromo P450 e após uma série de reações, são formadas a mostarda fosforamida e acroleína, ambos metabólitos ativos que tem grande citotoxicidade, além da mostarda fosforamida causar reticulação no DNA (MADONDO et al., 2016).

Neste trabalho, verificou-se que o isotônico provocou o aumento significativo da atividade da SOD, teve uma

tendência a diminuir os níveis do TBARS e aumentou os níveis de ASA. Sendo que além desses benefícios atribuídos ao isotônico, ele também foi capaz de atenuar o conteúdo da GSH.

O aumento da atividade enzimática da SOD no grupo ISO + CYP e no grupo ISO, mostra que as antocianinas presentes na bebida podem além de inibir a ação oxidativa das espécies reativas, proteger a enzima da depleção causada pelo estresse oxidativo (KHOO et al., 2017). Nossos achados frente a análise de TBARS demonstrou uma tendência a queda neste marcador, mesmo em comparação ao controle sugerindo que mesmo havendo alguma produção fisiológica, este isotônico, devido aos seus constituintes, poderia proteger da lipoperoxidação, mas que não foi estatisticamente significativa em função do tamanho amostral. Ao que se refere a presença das antocianinas, os frutos podem se apresentar na cor púrpura quando maduros (CARVALHO et al., 2016), mas podendo variar os tons que vão desde a coloração vermelha até a coloração azul (LOPES et al., 2007). Ainda, no trabalho de Finco et al. (2012) fizeram análises fitoquímicas na mesma espécie, a *Oenocarpus bacaba* Mart, e foi encontrada uma grande quantidade de antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos em análises do extrato do fruto dessa palmeira, o que a torna muito promissora no combate ao estresse oxidativo.

Em adição, houve um aumento do ácido ascórbico (ASA) nos grupos ISO + CYP e uma tendência ao aumento no grupo ISO, algo positivo já que o ASA é um importante antioxidante não enzimático presente em muitos alimentos. Este também é conhecido como vitamina C, é uma vitamina hidrossolúvel que apresenta atuação como antioxidante, eliminando os radicais livres, como o radical hidroxila e oxigênio singlete que causam danos nos tecidos (YIMCHAROEN et al., 2019). Além disso, desempenha um papel em muitas reações enzimáticas, incluindo aquelas que levam à síntese de aminoácidos e colágeno, é utilizado como cofator de enzimas, e entre outros papéis na estimulação imunológica, (PEHLIVAN, 2017). A vitamina C ou ácido ascórbico é uma vitamina que está naturalmente presente em muitas frutas, como é caso da *O. bacaba*, tal como descrito na literatura (SANTOS et al., 2015). Não obstante, contribuiu para o aumento deste importante antioxidante no organismo dos animais teste.

Ademais o isotônico foi antimutagênico no teste de micronúcleo, pois limitou a ação da CYP quando usado no pré-tratamento dos camundongos, reforçando ainda mais o fato de que a substituição de corantes sintéticos para corantes de fonte natural, tem efeitos positivos sobre saúde e ao meio ambiente, além de apresentar função terapêutica. Sugere-se que uma maior concentração deste fruto na formulação tenha maiores ganhos na proteção do organismo, em consequência, uma maior biodisponibilidade de antocianinas, já que a presença destes e de outros compostos já é comprovadamente eficaz em vários aspectos da saúde humana (RAMIREZ-TORTOSA et al., 2001). Não há na literatura, até o momento, trabalhos que envolvam esse fruto ou alguma espécie do mesmo gênero que tenha sido feito teste de mutagenicidade para efeito de comparação. Porém, há um estudo que demonstra que a Vitamina C pode exercer efeito antimutagênico por eliminação de radicais livres em células humanas (fibroblastos) irradiadas com raio-X (HARADA et al., 2008). Outra justificativa para essa linha de raciocínio é o estudo realizado por Neri-Numa et al. (2013)

com o fruto da planta *Eugenia stipitata*, conhecido por ser rico em Vitamina C, terpenos, compostos voláteis e fibras, avaliando em seus resultados o efeito antimutagênico e antioxidante do fruto em comparação à um grupo tratado com Ciclofosfamida. Os autores avaliaram que a *E. stipitata* não apresentou atividade mutagênica em nenhuma das concentrações testadas, mas todos os grupos tratados com o extrato apresentaram atividade antimutagênica quando comparadas ao controle positivo de CYP ( $P < 0,05$ ). O que nos faz sugerir que a presença da Vitamina C pode ter influência em parte nesse efeito antimutagênico do isotônico.

## 5. CONCLUSÕES

O estudo mostrou que mesmo em baixo teor, os antioxidantes naturais presentes no isotônico feito a partir de cascas do fruto da *O. bacaba*, apresenta benefícios contra eventos oxidativos tais como os desencadeados pela Ciclofosfamida. Portanto, o uso deste corante natural apresenta benefícios que vão muito além do estético, aroma e sabor, podendo agir como alimento nutracêutico. Porém, mais estudos são necessários para compreender a atividade antioxidante e antimutagênica deste vegetal e na formulação proposta usando testes *in vivo*.

## 6. REFERÊNCIAS

ANASTÁCIO, L. B.; OLIVEIRA, D. A.; DELMASCHIO, C. R.; ANTUNES, L. M. G.; CHEQUER, F. M. D. Corantes alimentícios amarantho, eritrosina b e tartrazina, e seus possíveis efeitos maléficos à saúde humana. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, N. 3, p. 16-30, 2016.

ANGIE, M. B.; PAKA, D.; NTENTIE, G.; NGONDI, D.; ENYONG, O. Protective effect of hydroethanolic extracts of *Solanum scabrum* and *Cola verticillata* against cyclophosphamide induced toxicity in female rats. **Journal of Food Research**, v. 3, n. 3, p. 18-30, 2014. <https://doi.org/10.5539/jfr.v3n3p18>

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. B. F.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>

BARBOSA, F. G.; SUGUI, M. M.; SINHORIN, V. D. G.; BICUDO, R. C.; MOURA, F. R.; SINHORIN, A. P. First phytochemical and biological study of the ethanolic extract from leaves of *Capirona decorticans* (Rubiaceae). **Acta Amazonica**, v. 48, n. 4, p. 338-346, 2018. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201703483>

BASU, A.; BHATTACHARJEE, A.; SAMANTA, A.; BHATTACHARYA, S. Prevention of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and genotoxicity: Effect of a cysteine based oxovanadium (IV) complex on oxidative stress and DNA damage. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 40, n. 3, p. 747-757, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.08.035>

BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 180, p. 280-287, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.059>

BIRBEN, E.; SAHINER, U. M.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, p. 9-19, 2012. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

BRAGANTE, W.; SINHORIN, V. D. G.; SUGUI, M. M.; DA CUNHA, A. P. S.; DOS SANTOS, W. B.; SINHORIN, A.P. *In vivo* mutagenic effects and oxidative stress parameters evaluation of cypermethrin and benzoate of emamectin and their mixtures in female mice. **Journal Of Environmental Science And Health Part b - Pesticides Food Contaminants And Agricultural Wastes**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2022. <https://doi.org/10.1080/03601234.2022.2045841>

BRASIL\_ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 18, de 27 de abril de 2010**. Dispõe sobre alimentos para atletas. Diário oficial da união; **Poder executivo**, de 28 de abril de 2010.

BRITO, C. J.; MARINS, J. C. B. Caracterização das práticas sobre hidratação em atletas da modalidade de judô no estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, n. 1, p. 59-74, 2005. <https://doi.org/10.18511/rbcm.v13i2.626>

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-309, 1978. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6)

CARVALHO, A. V.; SILVEIRA, T. F.; SOUSA, S. H. B.; MORAES, M. R.; GODOY, H. T. Phenolic composition and antioxidant capacity of bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.) genotypes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 54, p. 1-9, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.09.013>

CASANOVA, N. A.; SIMONIELLO, M. F.; NIGRO, M. M. L.; CARBALLO, M. A. Modulator effect of watercress against cyclophosphamide-induced oxidative stress in mice. **Medicina**, v. 77, n. 3, p. 201-206, 2017.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes alimentícios. **Boletim CEPPA**, v. 20, p. 203-220, 2002. <https://doi.org/10.5380/cep.v20i2.1248>

CORREIA, B. M.; BALDISSERA, L.; BARBOSA, F. R. B.; RIBEIRO, E. B.; ANDRIGHETTI, C. R.; AGOSTINI, J. S.; VALLADÃO, D. M. S. Centesimal and mineral composition and antioxidant activity of the bacaba fruit peel. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 2, p. 509-517, 2019. <https://doi.org/10.14393/BJ-v35n2a2019-41868>

DA CUNHA, A. P. S.; BRAGA, A. J. L.; KAEFER, U. Q. S.; SUGUI, M. M.; SINHORIN, V. D. G. Análise do extrato aquoso da jabuticaba frente ao status redox e mutagênese em camundongos. **Nativa**, v. 10, n. 1, p. 83-89, 2022. <https://doi.org/10.31413/nativa.v10i1.13435>

EGEA, J.; FABREGAT, I.; FRAPART, Y. M.; et al. Review article: European contribution to the study of ROS: A summary of the findings and prospects for the future from the COST action BM1203 (EU-ROS). **Redox Biology**, v. 13, p. 94-162, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.05.007>

FAHMY, S. R.; AMIEN, A. I.; ABD-ELGLEEL, F. M.; ELASKALANY, S. M. Antihepatotoxic efficacy of

- Mangifera indica* L. polysaccharides against cyclophosphamide in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 244, p. 113-120, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.009>
- FINCO, F. B. A.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R.; TSENG, R. W.-H.; BOSER, S.; GRAEVE, L. Antioxidant activity and characterization of phenolic compounds from bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart), Fruit by HPLC-DAD-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7665-7673, 2012. <https://doi.org/10.1021/jf3007689>
- FIRUZI, O.; MIRI, R.; TAVAKKOLI, M.; SASO, L. Antioxidant therapy: Current status and future prospects. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 3871-3888, 2011. <https://doi.org/10.2174/092986711803414368>
- GODOY, B. S. A.; SINHORIN, V. D. G.; CASTOLDI, L.; SUGUI, M. M.; BICUDO, R. C.; SINHORIN, A. P. First phytochemical study and biological activity of the leaves ethanolic extract from *Cissus spinosa* Cambess. **Scientia Medica**, v. 30, p. 1-17, 2020. <https://doi.org/10.15448/1980-6108.2020.34860>
- GOOT, A. J.; PELGROM, P. J. M.; BERGHOUT, J. A. M.; GEERTS, M. E. J.; JANKOWIAK, L.; HARDT, N. A.; BOOM, R. M. Concepts for further sustainable production of foods. **Journal of Food Engineering**, v. 168, p. 42-51, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.010>
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JACOBY, W. B. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.
- HARADA, T.; KASHINO, G.; SUZUKI, K.; MATSUDA, N.; KODAMA, S.; WATANABE, M. Different involvement of radical species in irradiated and bystander cells. **International Journal of Radiation Biology**, v. 84, p. 809-814, 2008. <https://doi.org/10.1080/09553000802360844>
- HAMERSKI, L.; SOMNER, G.V.; TAMAIO, N. *Paullinia cupana* Kunth (Sapindaceae): A review of its ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 30, p. 2221-2229, 2013. DOI: 10.5897/JMPR2013.5067
- KHOO, H. E.; AZLAN, A.; TANG, S. T.; LIM, S. M. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food & Nutrition Research**, v. 61, e1361779, 2017. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: Uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 2, p. 291-297, 2007.
- LUIZ, T. C.; CUNHA, A. P. S.; AGUIAR, D.; SUGUI, M. M.; BICUDO, R. C.; SINHORIN, A. P.; SINHORIN, V. D. G. Antioxidant potential of *Carica papaya* Linn (Caricaceae) leaf extract in mice with cyclophosphamide induced oxidative stress. **Scientia Medica**, v. 30, n. 1, p. 1-15, 2020. <https://doi.org/10.15448/1980-6108.2020.1.34702>
- LUIZ, T. C.; RIALTO, L. H.; MOURA, F. R.; AGUIAR, D. H.; SUGUI, M. M.; BICUDO, R. C.; SINHORIN, A. P.; SINHORIN, V. D. G. Chemoprotective effect of leaf extracts of *Cecropia distachya* Huber (Urticaceae) in mice submitted to oxidative stress induced by cyclophosphamide. **Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 9, n. 2, p. 103-127, 2020. <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2020v9i2.p103-127>
- MACGREGOR, J. T.; HEDDLE, J. A.; HITE, M.; MARGOLIN, B. H.; RAMEL, C.; SALAMONE, M. F.; TICE, R. R.; WILD, D. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutation Research**, v. 189, p. 103-112, 1987. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(87\)90016-4](https://doi.org/10.1016/0165-1218(87)90016-4)
- MADONDO, M. T.; QUINN, M.; PLEBANSKI, M. Low dose cyclophosphamide: Mechanisms of T cell modulation. **Cancer Treatment Reviews**, v. 42, p. 3-9, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2015.11.005>
- MANOHARAN, K.; BANERJEE, M. R.  $\beta$ -Carotene reduces sister chromatid exchange induce chemical carcinogens in mouse mammary cells in organ culture. **Cell Biology International Reports**, v. 8, p. 783-789, 1985. [https://doi.org/10.1016/0309-1651\(85\)90096-7](https://doi.org/10.1016/0309-1651(85)90096-7)
- MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, p. 1218-1223, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500051>
- MARMITT, S.; PIROTTA, L.V.; STÜLP, S. Aplicação de fotólise direta e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a efluente sintético contendo diferentes corantes alimentícios. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 384-388, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000200027>
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170-3175, 1972.
- MOGHE, A.; GHARE, S.; LAMOREAU, B.; MOHAMMAD, M.; BARVE, S.; MCCLAIN, C.; JOSHI-BARVE, S. Molecular Mechanisms of Acrolein Toxicity: Relevance to Human Disease. **Toxicological Sciences**, v. 143, p. 242-255, 2015. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu233>
- NAFEES, S.; RASHID, S.; ALI, N.; RASAN, S.K.; SULTANA, S. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in *Wistar* rats: Role of NF $\kappa$ B/MAPK pathway. **Chemical Biological Interactions**, v. 23, p. 98-107, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.02.021>
- NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 °C (with molar extinction coefficients of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution in the UV). **Analytical Biochemistry**, v. 49, p. 474-478, 1972. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90451-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90451-4)
- NERI-NUMA, I. A.; CARVALHO-SILVA, L. B.; MORALES, J. P.; MALTA, L. G.; MURAMOTO, M. T.; FERREIRA, J. E. M.; CARVALHO, J. E. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* McVaugh - Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, v. 50, p. 70-76, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.032>
- PEHLIVAN, E. F. **Vitamin C: An Antioxidant Agent**. Edited by Amal H. Hamza. 2017. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/vitamin-c/vitamin-c-an-antioxidant-agent>> Acesso em: abril de 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69660>

- PEREIRA, B. C. A. Teste estatístico para comparar proporções em problemas de citogenética. In: RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A. R.; MONTELEONE NETO, R. (Orgs). **Mutagenese, carcinogênese e teratogênese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991. p.113-121.
- POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Caderno de Saúde Pública**, v. 25, p. 1653-1666, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009000800002>
- PORFÍRIO, M. C. P.; GONCALVES, M. S.; BORGES, M. V.; LEITE, C. X. D. S.; SANTOS, M. R. C.; SILVA, A. G. D.; FONTAN, G. C. R.; LEÃO, D. J.; JESUS, R. M.; GUALBERTO, S. A.; LANNES, S. C. S.; SILVA, M. V. Development of isotonic beverage with functional attributes based on extract of *Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg. **Food Science Technology**, v. 40, n. 3, p. 614-620, 2019. <https://doi.org/10.1590/fst.14319>
- RAMIREZ-TORTOSA, C.; ANDERSEN, O. M.; GARDNER, P. T.; MORRICE, P. C.; WOOD, S. G.; DUTHIE, S. J.; COLLINS, A. R.; DUTHIE, G. G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin e-depleted rats. **Free Radical Biology and Medicin**, v. 31, p. 1033-1037, 2001. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00618-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00618-9)
- ROE, J. H. Chemical determination of ascorbic, dehydroascorbic, and diketogulonic acids. In: GLICK, D. (Ed). **Methods of Biochemical Analysis**, v.1. New York: Interscience, 1954. p. 115-139. <https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch5>
- SANTOS, E. S. M.; ALVES, R. M.; LIMA, C. S. Elaboração tecnológica e aceitação sensorial de bebida isotônica orgânica de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, p. 87-92, 2013.
- SANTOS, M. F. G.; MAMEDE, R. V. S.; RUFINO, M. S. M.; BRITO, E. S.; ALVES, R. E. Amazonian native palm fruits as sources of antioxidant bioactive compounds. **Antioxidants**, v. 4, p. 591-602, 2015. <https://doi.org/10.3390/antiox4030591>
- SCHMID, W. The micronucleous test for cytogenetic analysis. In Hollaender, A. (Ed.) Chemical mutagenesis: principles and methods for their detection. New York: **Plenum Press**, v. 4, p. 31-53, 1976. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-0892-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-0892-8_2)
- SEDLACK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4)
- WU, T.; HE, M.; ZANG, X.; ZHOU, Y.; QIU, T.; PAN, S.; XU, X. A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E. coli* by membrane interaction effect. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1828, p. 2751-2756, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.07.029>
- YAN, L. J.; TRABER, M. G.; PACKER, L. Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human low-density lipoproteins. **Analytical Biochemistry**, v. 228, p. 349-351, 1995. <https://doi.org/10.1006/abio.1995.1362>
- YIMCHAROEN, M.; KITTIKUNNATHUM, S.; SUKNIKORN, C.; NAK-ON, W. YEETHONG, P.; ANTHONY, T. G.; BUNPO. P. Effects of ascorbic acid supplementation on oxidative stress markers in healthy women following a single bout of exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12970-019-0269-8>
- WATERS, M. D.; BRADY, A. L.; STACK, H. F.; BROOKMAN, H. E. Antimutagenic profiles for some model compounds. **Mutation Research**, v. 238, p. 57-85, 1990. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(90\)90039-e](https://doi.org/10.1016/0165-1110(90)90039-e)

**Agradecimentos:** Os autores agradecem a Universidade Federal de Mato Grosso pelo suporte logístico, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela concessão de bolsas de estudo para A.P.S.C., W.B.S. e A.J.L.B.

**Contribuição dos autores:** V.D.G.S. - orientadora, metodologia, análise estatística, correção escrita, leitura científica, submissão, redação final e publicação; T.C.L. e A.J.L.B. - metodologia, atividade experimental e escrita; A.P.S.C e W.B.S. - metodologia, atividade experimental, análise estatística; L.B - coleta vegetal, produção do extrato; M.M.S. - coleta de dados, análise estatística, leitura científica; D.M.S.V. - coleta vegetal, produção do extrato, leitura científica.

**Revisão por comitê institucional:** Não se aplica.

**Comitê de Ética:** Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) - UFMT sob o número de protocolo 23108.724839/2017-91.

**Disponibilização de dados:** Os dados da pesquisa serão disponibilizados mediante solicitação através do e-mail da autora correspondente.

**Conflito de Interesse:** Os autores declaram que não existem conflitos de interesse com outros pesquisadores ou instituições.