

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOQUIMICA**

FÉLIX ROMAN MUNIEWEG

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E NA PROLIFERAÇÃO CELULAR DOS
EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Psidium cattleianum sabine* (ARAÇÁ) EM
LINHAGENS DE CÂNCER**

Uruguiana

2019

FÉLIX ROMAN MUNIEWEG

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E NA PROLIFERAÇÃO CELULAR DOS
EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Psidium cattleianum sabine* (ARAÇÁ) EM
LINHAGENS DE CÂNCER**

Trabalho de Conclusão de Mestrado
apresentado ao Programa de pós-
graduação em bioquímica da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Mestre em bioquímica

Orientador: Prof^a Dr^a Cristiane
Casagrande Denardin

**Uruguiana
2019**

**Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .**

M963a Munieweg, Félix Roman

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E NA PROLIFERAÇÃO CELULAR DOS
EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Psidium cattleianum* sabine (ARAÇÁ) EM
LINHAGENS DE CÂNCER / Félix Roman Munieweg.

88 p.

Dissertação(Mestrado)-- Universidade Federal do Pampa, MESTRADO
EM BIOQUÍMICA, 2019.

"Orientação: Cristiane Casagrande Denardin".

1. Fruta nativa brasileira. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Antiproliferativo.
4. Araçá. I. Título.

FÉLIX ROMAN MUNIEWEG

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E NA PROLIFERAÇÃO CELULAR DOS
EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Psidium cattleianum sabine* (ARAÇÁ) EM
LINHAGENS DE CÂNCER**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Programa de pós-
graduação em bioquímica da Universidade
Federal do Pampa, como requisito parcial
para obtenção do Título de Mestre em
bioquímica

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 12, julho de 2019.

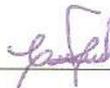
Banca examinadora:



Prof^a Dr^a Cristiane Casagrande Denardin

Orientador

UNIPAMPA



Prof^a. Dr^a Cheila Denise Ottonelli Stopiglia

UNIPAMPA



Prof. Dr^a. Fabiane Moreira Farias

UNIPAMPA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a conclusão deste estudo...

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me dado tanta força para conseguir enfrentar minha dificuldade e me acudir em momentos difíceis. Aos meus pais, por terem me apoiado em minhas decisões, sempre contribuindo para meu crescimento tanto profissional quanto emocional, sem vocês não teria como ter chegado até aqui. Ao meu namorado Felipe B. Carvalho, por ter aguentado minha lamurias em todo esse período e por me compreender em todas as fazes que passei, certamente além de namorado foi psicólogo na horas difíceis, meu conselheiro nas dúvidas, minha escola nos momentos que me desestabilizava e minha alegria nos momentos de tristeza, Te Amo. A minha família, a quem dedico todas as minhas vitórias, tenho um grande amor por todos vocês, avós Artur e Selma; Simão e Frida; meus sobrinhos Bianca e Pedro e a meus irmãos Felipe e Franciele.

A minha orientadora, Professora Doutora Cristiane Denardin obrigado pelo carinho e confiança depositada, só tenho a agradecer todas as oportunidades que me proporcionou, além de professora, amiga, e, muitas vezes, a pessoa positiva, falando que tudo daria certo. Meu título só foi concebido devido a toda a sua dedicação em me ajudar a conquistá-lo. Agradeço ao GBToxCe e o GBToxBio, e de modo geral a todas as pessoas que estavam presente nesse período no Lab, tanto as que saíram quanto as que estavam chegando. Tenho que agradecer especialmente a algumas pessoas que estiveram mais próximas neste período como: Nutri (Cristiane Rodrigues), Mana (Jean Boldori), Daia (Daiana Avila), Carol Quines (Pós doc), Gege (Eugenia kulm) Prof (Cristiane Denardin), Flavinha e aos IC's Iury, Manu, Dani, Kayhan, Anne, Thais, Lu e Bibi, pela paciência e atenção vocês me ensinaram muito, fico muito feliz com esse tempo que ficamos juntos.

Gostaria de agradecer aos professores Cristiano Jesse e Silvana Boeira dos quais me disponibilizaram um voto de confiança para seguir meu sonho profissional. Aos amigos e colegas da pós e fora da pós, que muito incomodei pedindo coisas: Murilo, Jefferson, Ingryd, Matheus e a gurias da Simone, Anne, Eduarda e Edina. E por fim, aos meus amigos que embora tenha me afastado muito nesse tempo estiveram sempre comigo: Natalia, Manuela, Thais, Marcelo, Ana Reets, Aline. E a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

A Capes e ao CNPQ, pela bolsa concebida a mim durante grande parte do período de Mestrado e pelos recursos para a Pós-Graduação.

Parte I

Resumo

O câncer e as doenças infecciosas causadas por bactérias e fungos, atingem grande parte da população devido a mudanças no estilo de vida e maior expectativa de vida, para o caso das neoplasias, e no caso das doenças infecciosas devido aos micro-organismos tornarem-se cada vez mais resistentes aos medicamentos atuais, diminuindo a efetividade dos tratamentos. Desta forma surge o araçá, fruto do araçazeiro, nativo do Brasil e que apresenta duas variedades: amarelo e vermelho. São frutas comuns do bioma mata atlântica e ricas em nutrientes, principalmente em fibras alimentares totais e compostos fitoquímicos, e que poderiam servir como uma ferramenta para prevenção e/ou tratamento tanto de neoplasias quanto infecções. Desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antimicrobiano e antiproliferativo dos extratos do araçá amarelo e vermelho sobre micro-organismos de interesse farmacológico e linhagens de células de câncer. Foi realizada análise físico-química dos frutos, logo após foram preparados os extratos hidroalcoólicos a fim de testar seu possível efeito antiproliferativo sobre linhagens de câncer e o efeito antimicrobiano frente aos micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* carbapenase e ao fungo *Candida albicans*. Os frutos apresentam diferenças de compostos fitoquímicos e observamos que o araçá vermelho apresenta maior quantidade de antocianinas e o araçá amarelo tem maior quantidade de derivados do ácido caféico. Além disso, o extrato de araçá vermelho apresentou efeito citotóxico para a linhagem de câncer colorretal na concentração de 50 µgEAC/mL. Ainda, os extratos de araçá apresentaram efeito antimicrobiano sobre *S. aureus*, *E. coli*, KPC e *C. albicans*, destaca-se o efeito observado frente a *C. albicans*, com 78,12 µgEAC/ml para o araçá amarelo e 39,06 µgEAC/ml para o araçá vermelho no teste de concentração inibitória mínima (CIM). Concluímos que os extratos dos frutos de araçá têm efeito antimicrobiano promissores e potencial farmacológico para o combate de *C. albicans*.

Palavras-Chave: Fruta nativa brasileira; atividade antimicrobiana; antiproliferativo; araçá.

Abstract

Cancer and infectious diseases caused by bacteria and fungi, reach a large part of the population that is why the population changed their etii of life and lives more in the case of neoplasms, already in the case of infectious diseases due to the microorganisms becoming more Resistant to current medications, decreasing the effectiveness of the treatments. Thus, the Araçá fruit of the Araçazeiro, native to Brazil, presents two varieties: yellow and red, are common fruits of the Atlantic forest biome and rich in nutrients, mainly in total dietary fibers and phytochemical compounds, could Serve as a tool for prevention and/or treatment for both neoplasms and infections. Thus, the objective of this work was to evaluate the antimicrobial and antiproliferative effect of yellow and red araçá extracts on microorganisms of pharmacological interest and cell lines of cancer. Physicochemical analysis of the fruits was performed, shortly after the hydroalcolic extracts were performed in order to test its possible antiproliferative effect on cancer lines and the antimicrobial effect against the microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Esterichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* carbapenase and the fungus *Candida albicans*. The fruits showed differences of phytochemical compounds and it was observed that the red Araçá has a larger amount of anthocyanins and the yellow Araçá has a higher amount of caffeic acid derivatives. In addition, the red Araçá extract showed a cytotoxic effect for the colorectal cancer lineage at the concentration of 50 EAC/mL. Also, that the extracts of Araçá showed antimicrobial effect on *S aureus*, *E. coli*, KPC and *C. albicans*, the effect observed against *C. albicans* was highlighted, with 78.12 EAC/ml for yellow araçá and 39; 06 EAC/ml for red araçá in the concentration test Minimum inhibitory (MIC). We conclude that the extracts of the fruits of araçá have promising potential pharmacological antimicrobial effects for the combat of *C. albicans*.

Keywords: Brazilian native fruit; Antimicrobial activity; Antiproliferative Araçá.

Apresentação

A presente dissertação encontra-se organizada em 3 partes principais:

A parte I representa a introdução e a revisão bibliográfica na qual contém o referencial teórico utilizado para a construção das hipóteses investigadas nesta dissertação e o objetivo geral trazem o principal questionamento do trabalho realizado e os objetivos específicos que nortearam a realização da dissertação.

A parte II traz um manuscrito em preparação para submissão. As seções materiais e métodos, resultados, discussão e referências bibliográficas encontram-se nos próprios manuscrito.

A parte III abrange conclusão perspectivas e referências bibliográficas. A conclusão contém um resumo dos principais achados da dissertação. Em seguida, está apresentada a seção perspectivas, a qual sugere possíveis estudos futuros a partir dos resultados obtidos nesta investigação, e a seção referências bibliográficas que apresenta a bibliografia citada nas seções introdução e revisão da literatura.

Lista de abreviaturas e siglas

- C. albicans*- *Candida albicans*
CVV- Candidíase vulvovaginal
DNA- Ácido desoxirribonucleico
E. coli- *Escherichia coli*
EHEC- *Escherichia coli* enterohemorrágica
ESBL– *Klebsiella pneumoniae* resistente a β -lactamase de espectro estendido
EUA- Estados Unidos da América
INCA- Instituto Nacional do Câncer
K.pneumoniae- *Klebsiella pneumoniae*
KPC *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase
CIM- Concentração inibitória mínima
MO- Micro-organismos
MS- Ministério da saúde
OMS- Organização Mundial de Saúde
ONU- Organização das Nações Unidas
PSA- Antígeno Prostático Específico
RCVV-reincidência de candidíase vulvovaginal
RM- Ressonância magnética
ROS- Espécies reativas de oxigênio
S.aureus- *Staphylococcus aureus*
SAB- Bacteremia causada por *Staphylococcus aureus*
MRSA- *Staphylococcus aureus* metilicilina resistente
SARV- *S. aureus* resistente a vancomicina
SHU- síndrome Hemolítica Urêmica
SNC- Sistema Nervoso Central
STEC- *Escherichia coli* produtora da toxina shiga
SUS- Sistema Unico de Saúde
TC- Tomografia computadorizada
UTI- Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

PARTE I	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
APRESENTAÇÃO	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Consumo de frutas e benefícios a saúde.....	16
2.3. Araçá (<i>Psidium cattleianum</i> Sabine).....	17
2.3 Câncer e compostos naturais.....	20
2.3.1. Câncer de próstata	22
2.3.2 Câncer Colorretal.....	24
2.3.3 Câncer no Sistema Nervoso Central	27
2.4. Antimicrobianos	28
2.4.1 <i>Escherichia coli</i> (E. coli).....	29
2.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i> (S.aureus).....	30
2.4.3. <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	32
Candida albicans	33
OBJETIVOS	35
Geral:	35
Específicos:	35
PARTE II	36
PARTE III	37
CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
PERSPECTIVAS	40
REFERÊNCIAS	41
ANEXOS	48

1 INTRODUÇÃO

O araçá *Psidium cattelianum* Sabine é uma fruta brasileira pouco conhecida e que apresenta um alto potencial antioxidante, desta forma pode prevenir os danos causados pelos radicais livres e algumas doenças como o câncer (Scur *et al.*, 2016; Soliman *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2018). Os motivos pelos quais esse fruto apresenta uma alta capacidade antioxidante é devido a suas características fitoquímicas, pois sabe-se que ele apresenta alta quantidade de composto fenólicos, flavonoides, carotenoides e antocianinas (Pereira *et al.*, 2018). Estudos demonstram que esses compostos têm a capacidade de capturar moléculas reativas assim prevenindo danos no DNA (Ho *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2012; Denardin *et al.*, 2015).

Existem estudos demonstrando que os óleos essenciais das folhas do araçá apresentam atividade frente aos micro-organismos, tanto bactérias quanto fungos, assim demonstrando mais uma linha de interesse para o uso desta planta, inclusive dos seus frutos que são pouco explorados quanto ao seu uso farmacológico (Scur *et al.*, 2016; Soliman *et al.*, 2016; Massunari *et al.*, 2017; Sangalli *et al.*, 2018).

Dados epidemiológicos demonstram que houveram 56,4 milhões de mortes declaradas no ano de 2016, e os micro-organismos (MO) são uns dos grandes causadores destes números. Em todo o mundo, das dez principais causas de mortes as infecções das vias respiratórias e tuberculose ocupam o 4º e 10º lugar, 3,0 e 1,3 milhões de mortes, respectivamente (Who, 2018). Desta forma, para evitar mais casos de mortalidade causada por MO as pesquisas desenvolvem vários métodos de prevenção empregados dentre eles o controle da qualidade da água, o uso de vacinas, e agentes químicos como sanitizantes (Soliman *et al.*, 2016). Porém, esses métodos embora eficientes, com o passar do tempo acabam perdendo efetividade visto que os MO acabam desenvolvendo resistência. Sendo assim muitas moléculas sintetizadas usadas como medicamentos não apresentam melhora do paciente (Alberts *et al.*, 2010; Soliman *et al.*, 2016).

Desta forma, de maneira global, existem muitas campanhas de órgãos e entidades para o combate do uso indiscriminado de antibióticos e herbicidas. E, desta forma, surge a necessidade do uso de plantas como uma nova ferramenta de tratamento visto que já existe na literatura a descrição de vários óleos essenciais,

extratos de plantas e moléculas com potencial efeito antimicrobiano quanto antitumoral. Como no caso do óleo de alho, eugenol como antifúngico e citral (Medina *et al.*, 2011; Castro *et al.*, 2015; Scur *et al.*, 2016; Soliman *et al.*, 2016).

Segundo dados das ONU (2018), aproximadamente 14 milhões de novos casos de câncer são registrados globalmente por ano. A Organização Mundial da Saúde (OMS) calcula que esse número deva aumentar 70% nas próximas duas décadas. Neoplasia é o nome genérico dado para células que apresentam características em comum como: crescimento anormal de células, tanto morfológica quanto em número, imortalização celular, capacidade de invasão de novos tecidos e o surgimento de metástase, além do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) ocasionado pela desordem redox. O aumento de ROS se dá devido a célula neoplásica acabar gastando muita energia em seu processo de divisão e desta forma suas mitocôndrias acabam necessitando de mais energia e, conseqüentemente, consumindo mais oxigênio e gerando mais ROS (Griffiths *et al.*, 2006; Nelson *et al.*, 2008; Alberts *et al.*, 2010; Murray *et al.*, 2010). As células cancerígenas são células que surgiram de uma célula que apresentou mutações e por conseqüência suas células filhas defeituosas perpetuam e se dividem novamente originando as primeiras células cancerosas e a partir daí ocorre o surgimento da doença (Alberts *et al.*, 2010). Desta forma os antioxidantes são uma arma potente contra o câncer, pois eles conseguem realizar a capturas dessas moléculas reativas que poderiam promover as mutações ou danos ao DNA e assim não danificando o genoma da célula (Alberts *et al.*, 2010; Murray *et al.*, 2010; Medina *et al.*, 2011; Ho *et al.*, 2012; Im *et al.*, 2012). Desta forma o objetivo deste trabalho foi analisar a composição bromatológica dos frutos do araçá amarelo e vermelho e avaliar se os extratos etanólicos destes frutos apresentam atividade antimicrobiana e antiproliferativa em linhagens de células cancerígenas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Consumo de frutas e benefícios a saúde

As desigualdades socioeconômicas interferem diretamente no modo de vida da população, desta forma, há maior risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes, doenças cardiovasculares e neoplasias em pessoas que não possuem dietas balanceadas. O desequilíbrio entre a quantidade de frutas/verduras e produtos alimentícios com altos teores calóricos é um dos principais fatores envolvidos para o surgimento destes distúrbios (Pechey *et al.*, 2015).

Segundo a OMS o baixo consumo de frutas está relacionado com o surgimento de alguns tipos de câncer, entre eles destaca-se o câncer colorretal. Porém, algumas metanálises demonstram que esta relação abrange outros tipos de cânceres como de pulmão, bexiga, mama, esôfago e pâncreas (Alberts *et al.*, 2010; Poirier *et al.*, 2019). Os mecanismos que explicam essa associação envolvem efeitos antioxidantes, estímulo da atividade de enzimas detoxificantes, ação dos micronutrientes e um sistema imunológico estimulado, comprovando que frutas apresentam efeitos profiláticos frente a desordens biológicas. As fibras, presentes em grande quantidade nas frutas, são capazes de aumentar o volume fecal e, conseqüentemente, seu trânsito intestinal, o que diminui a absorção de agentes carcinogênicos (Poirier *et al.*, 2019).

O consumo alimentar da população brasileira envolve alimentos pouco nutritivos e altamente calóricos, aliado a isto, o consumo de frutas e verduras encontra-se abaixo do valor mínimo recomendado pelo Ministério da Saúde (MS) (400g/dia), indicando que os indivíduos não estão nutridos com micronutrientes e substâncias essenciais para sua profilaxia. Aliado a esta deficiência nutricional está a facilidade no acesso a produtos industrializados que, em sua composição, apresentam diversas substâncias prejudiciais à saúde e que não são completamente caracterizadas quanto a seus efeitos biológicos (Ibge, 2019).

Os alimentos característicos de uma alimentação saudável (os *in natura* e minimamente processados de origem vegetal como frutas e verduras) têm efeito protetor nas diferentes fases da carcinogênese, desde a iniciação até a progressão do tumor. Evidências apontam que consumir alimentos contendo fibra e cereais integrais (grãos) minimamente processados (arroz, milho, aveia) reduz o risco desse câncer. As fibras dos alimentos de origem vegetal estimulam a formação de produtos de fermentação, especialmente os ácidos graxos de cadeia curta, como o ácido butanóico, que reduzem a proliferação celular e induzem à apoptose. Uma alimentação rica em fibras também reduz a resistência à insulina, alteração reconhecida como fator de risco para esse câncer. A recomendação para um adulto saudável é consumir de 25g a 30g de fibras ao dia (Inca, 2019a).

2.3. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine)

Araçá (*Psidium catteianum* Sabine) é uma planta pertencente a família Mytaceae, (Pino *et al.*, 2001; Im *et al.*, 2012; Tuler *et al.*, 2017) A espécie é caracterizada como uma pequena árvore / arbusto perene frutífero (1 a 4 m de altura) cujos diâmetros de fruto se situam entre 2,2 cm a 5 cm, com forma ovóide ou oblonga, pesando menos de 20 g, com número elevado de sementes (Brighenti *et al.*, 2011; Tuler *et al.*, 2017; Pereira *et al.*, 2018). *Psidium cattleianum* Sabine, é uma planta nativa do Brasil onde pode ser encontrada do estado da Bahia até o Rio Grande do Sul, é também possível achar alguns exemplares no Uruguai, Hawaii e ilhas do caribe devido a o fruto se adaptar bem ao clima (Egea *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2018).

Os frutos podem apresentar 3 variedades de casca nas cores amarelo, vermelho ou creme e polpa branco e alguns caso vermelha, no entanto raras, a prospecção morfológica demonstra que, 80% das frutas têm polpa creme, 11% branco e 9% vermelho pálido. Apesar das diferentes características de cor entre as variedades as características comuns são de núcleo, com uma polpa translúcida cheia de sementes (Pereira *et al.*, 2018).

Segundo Pereira *et al.*, (2018) a floração da arvore no sul do Brasil pode ocorrer em dois momentos principais, o primeiro de setembro a outubro e o segundo em dezembro. Ainda pode ocorrer uma terceira floração em março, assim proporcionando um longo tempo de colheita, iniciando em outubro e finalizando em

março, além disso, a produtividade é alta, chegando a 10 toneladas de fruta por hectare (Pereira *et al.*, 2018).

Araçá é uma fruta suculenta, assim podendo ser consumido tanto in natura quanto em seus derivados tecnológicos, sucos ou geleias (Egea *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2018), as principais características do fruto é que este é ácido, com polpa carnosa e toque picante (Egea *et al.*, 2014). Muitos estudos demonstram que o araçá é um fruto que apresenta um alto teor de ácido ascórbico (Brighenti *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2018; Vinholes *et al.*, 2018) além de muitos antioxidantes, principalmente os compostos fenólicos (Im *et al.*, 2012; Scur *et al.*, 2016), polifenóis, flavonoides (Ho *et al.*, 2012; Im *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2018), carotenoides (Pereira *et al.*, 2018) e terpenóides (Castro *et al.*, 2015; Sangalli *et al.*, 2018). Estes compostos bioativos são capazes de proteger os sistemas biológicos contra o excesso de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, desta forma prevenindo o desenvolvimento de doenças degenerativas, como aterosclerose, câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, entre outras (Medina *et al.*, 2011; Ho *et al.*, 2012; Im *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2018).

Já existem estudos demonstrando que as folhas do araçá apresentam atividade potencial para vários fins como: antimicrobiano, (Massunari *et al.*, 2017; Sangalli *et al.*, 2018) principalmente antifúngico (Castro *et al.*, 2015; Scur *et al.*, 2016; Soliman *et al.*, 2016; Sangalli *et al.*, 2018), analgésico (Alvarenga *et al.*, 2013), prevenindo a desmineralização do esmalte dental, degradação do biofilme dental *in situ* (Brighenti *et al.*, 2011), anti-inflamatório e efeito hepatoprotetor (Saber *et al.*, 2018).

No estudo de Alvarenga *et al.*, (2013) foi realizado uma triagem a fim de investigar *in vivo* atividade analgésica, toxicologia e a composição fitoquímica dos extratos de folhas de *Psidium cattleianum* Sabine, foi observado que extrato hidroalcoólico das folhas de araçá podem provocar atividade analgésica periférica nas concentrações de 60, 80, 100, 200 e 400 mg/kg em ratos, mas não apresentou atividade analgésica a nível de sistema nervoso central, e não apresentou toxicidade em celular LLC-MK2 LD50>4400 mg/MI. Além disso, o extrato das folhas foi capaz de apresentar atividade de combater radicais livres (IC50 de 15.9 mg/mL) pelo método de DPPH. A composição fitoquímica detectou a presença de flavonoides, saponinas, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas e taninos.

No estudo de (Castro *et al.*, 2015) avaliando a atividade antioxidante e antifúngica do óleo essencial das folhas de araçá, os autores observaram que o óleo essencial foi capaz de ter atividade antioxidante utilizando o ensaio de FRAP e observaram que o extrato foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica nos tecidos hipocampo e cerebelo de ratos e que o extrato não apresentou toxicidade via oral na concentração de LD50>500 mg/mL.

No estudo de (Biegelmeyer *et al.*, 2011) a composição química e a atividade antioxidante do araçá amarelo e vermelho foram avaliadas. Foi possível observar que em ambas as frutas estavam presentes vários compostos fenólicos determinados pelo método HPLC-DAD e, além de apresentar flavonoides, o fruto vermelho apresenta antocianinas sendo o composto majoritário a cianidina-3-glicosídeo.

No estudo de (Scur *et al.*, 2016) avaliando a atividade antimicrobiana das folhas a partir do uso de 3 extrato diferentes: aquoso, etanólico e o óleo essencial; frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteridis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidemilis*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*; os autores observaram que os extratos foram capazes de apresentar atividade antimicrobiana em todos os microorganismos testados, porém o extrato aquoso e o etanólico foram os que apresentaram melhores resultados do que comparado com o óleo essencial.

Soliman *et al.*, 2016 avaliaram o óleo essencial das folhas frente a diferente microorganismos: *bacillus subtilis*, *streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* e *Candida albicans*; e observaram que o óleo essencial foi capaz de inibir o crescimento microbiano através do método de CIM e desta forma poderia ser um possível candidato a fármaco antimicrobiano.

Sangalli *et al.*, 2018 avaliaram *in vivo* se o extrato etanólico das folhas de araçá eram capazes de inibir a formação de biofilme pelos microorganismos: *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* em ratos, e, conseqüentemente avaliar a desmineralização do esmalte dental em uma formulação onde os extratos etanólicos e propileno glicólicos mostraram atividade antimicrobiana significativamente maior contra *E. faecalis* ($p < 0, 1$) quando comparado com água destilada. Foi observado que a atividade antimicrobiana do extrato foi mais rápida e mais alta contra *E.*

faecalis, reduzindo significativamente a carga microbiana em 24 h. Todos os medicamentos foram eficazes contra *C. albicans*. Assim, sendo muito promissor o seu uso aplicado ao campo da odontologia.

2.3 Câncer e compostos naturais

Segundo dados da Organização das Nações Unidas (ONU), aproximadamente 14 milhões de novos casos de câncer são registrados anualmente, a OMS estima que este valor irá subir 70% nas próximas duas décadas. Estes dados demonstram que as neoplasias se tornaram doenças comuns na sociedade atual e os óbitos decorrentes desta doença são expressivos, no ano de 2016 foram registrados 8,8 milhões de mortes associadas a algum tipo de neoplasia (Oms, 2017).

O Instituto Nacional do Câncer (INCA) registrou 300.140 novos casos de câncer em homens e 282.450 em mulheres, apenas no ano de 2018, sendo o câncer de próstata mais comum em homens (31,7%) e câncer de mama mais comum em mulheres (29,5%). Estes tipos de neoplasias, próstata e mama, apresentam altos índices de mortalidade, junto a estes destacam-se traqueia, brônquios, pulmão e estômago (Inca, 2018).

Com o aumento exponencial dos casos de neoplasias, o governo ampliou os gastos com o tratamento e prevenção do câncer, sendo que no ano de 2016 foram investidos 3,33 bilhões de reais para esta finalidade. Além disto, o paciente diagnosticado necessita de consultas com médicos especializados, realização de exames de rotina, medicamentos antineoplásicos e procedimentos como radioterapias e quimioterapias, estas ações de média complexidade, muitas vezes não são incluídas nos gastos do governo. O Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza, de forma gratuita, cerca de 308 serviços habilitados para o tratamento oncológico, além de campanhas de prevenção como outubro rosa e novembro azul (Ms, 2017).

O câncer é uma doença multifatorial e tem como causa principal as mutações no genoma. Fisiologicamente, as células encontram-se em constante divisão celular e, eventualmente, ocorrem erros e a formação de genes defeituosos, porém as

células apresentam mecanismos capazes de reparar estes erros genéticos. A ausência deste reparo celular gera mutações genéticas que permitem a célula se multiplicar de maneira desordenada, originando a neoplasia. Esta patologia sofre influências ambientais como a exposição a defensivos agrícolas, tabagismo, alto consumo de bebidas alcoólicas, micotoxinas presentes em alguns alimentos, exposição a alguns vírus e a radiação (raios ultravioleta, raios-X e raios gama). O estresse oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento do câncer, os radicais livres são capazes de interagir com as bases do DNA, capturando elétrons das ligações de hidrogênio resultando na desestabilização da molécula e aumento na suscetibilidade a erros (Griffiths *et al.*, 2006; Nelson *et al.*, 2008; Alberts *et al.*, 2010; Murray *et al.*, 2010; Carvalho e Recco-Pimentel, 2013; Sasse *et al.*, 2017).

O estilo de vida da população afeta diretamente o desenvolvimento da neoplasia, o tabagismo apresenta uma relação muito forte com o surgimento do câncer de pulmão, bem como a alta exposição diária a poluição atmosférica, exemplo de grandes cidades. A dieta ocupa uma grande parcela deste problema, como por exemplo, alimentos ricos em sal de nitrato levam ao desenvolvimento de câncer de estômago e intestino, bem como alimentação rica em gorduras saturadas e deficiente em fibras. Além disso, o consumo de bebidas alcólicas pode acarretar o surgimento de câncer de boca e garganta e aliado a isto, a obesidade e o sedentarismo são descritos como fatores que aumentam o risco do desenvolvimento desta doença (Alberts *et al.*, 2010). Outro fator que desempenha um papel importante é a genética, estudos demonstram, por exemplo, a maior probabilidade de caso de câncer de pele em indivíduos que apresentem a coloração de pele mais clara.

Partindo desse pressuposto podemos observar que o câncer é uma doença que atinge uma grande parcela da população e que seu tratamento, muitas vezes, é complicado e caro para os cofres públicos, o que resulta em uma alta incidência de óbitos. Assim, a melhor forma para o combate da doença é a prevenção, neste sentido, o consumo de frutas e verduras podem auxiliar o combate ao desenvolvimento e instalação desta patologia, isto deve-se ao fato destes alimentos serem fontes de fibras e ricos em compostos antioxidantes (Alberts *et al.*, 2010).

Os compostos antioxidantes são moléculas ou substâncias que tem a função de neutralizar outras moléculas instáveis, doando elétrons para que eles se tornem estáveis, desta forma evitando danos a célula e prevenindo alterações em seu DNA (Alberts *et al.*, 2010; Russo *et al.*, 2017). Esses compostos bioativos são metabolitos secundários presentes nas plantas como frutas e verduras (Bieglmeyer *et al.*, 2011).

2.3.1. Câncer de próstata

Dentro da população masculina o câncer de próstata é a segunda neoplasia mais comum, apenas perdendo para o câncer de pele. No Brasil em 2016 foram diagnosticados cerca de 61.200 casos da doença (Sasse *et al.*, 2017).

O câncer de próstata afeta uma glândula presente no homem, localizada ao redor da uretra, sendo que sua função é a produção de um fluido para proteção dos espermatozoides. O tamanho desta glândula varia conforme a idade do indivíduo e aumenta em caso de neoplasias, afetando a excreção de urina normal (Inca, 2017). Assim como outros cânceres, o de próstata têm vários fatores, entre eles a idade, a qual aumenta exponencialmente a ocorrência desta doença. Porém, existem outros fatores relacionados como: genéticos, sobrepeso e/ou obesidade, e outros fatores ainda não comprovados, como a alimentação, consumo de álcool, tabagismo e vasectomia (Inca, 2002; 2017).

Esta neoplasia é extremamente agressiva, apresentando uma taxa de cura e sobrevivência muito pequena. Isso é devido ao seu diagnóstico ser, muitas vezes, realizado tardiamente, diminuindo a chance de sucesso dos tratamentos utilizados. Desta forma, os pacientes, na maioria das vezes, são submetidos a tratamentos mais agressivos o que ocasiona inúmeros efeitos colaterais e diminuição da qualidade de vida do mesmo (Inca, 2002; 2017). Sendo assim, o Ministério da Saúde juntamente com a Sociedade Brasileira de Urologia e outros grupos de interesse recomendam o diagnóstico precoce a fim de aumentar as possibilidades de cura e desta forma evitar que o paciente seja exposto a tratamentos muito invasivos que irão proporcionar transtornos, muitas vezes, piores que a própria condição (Inca, 2002; Sasse *et al.*, 2017).

Atualmente um dos testes mais confiáveis para detecção de câncer de próstata é a quantificação de PSA (Antígeno Prostático Específico), um exame

promissor que avalia de forma geral o órgão. O exame de toque, embora muito utilizado, pode apresentar algumas limitações, visto que apenas a porção posterior e lateral da próstata podem ser apalpadas, onde 40 a 50% dos tumores não são detectados. Embora o PSA seja altamente sensível e específico, pacientes com valores elevados são muitas vezes submetidos a biópsia de forma desnecessária, visto que esta enzima não é produzida pela célula de câncer e sim pelas células presentes na próstata, podendo estar aumentada devido a várias causas como prostatite ou após a ejaculação (Inca, 2002). Diversos avanços ocorreram na detecção precoce desta neoplasia, porém pouco se sabe sobre a proliferação destas células, existindo diversas falhas que devem ser corrigidas e que podem ser o motivo desta doença ainda ser detectada em estágios mais avançados, promovendo menor chance de cura.

O câncer de próstata pode ser classificado em 5 estágios. O estágio 1 caracteriza-se por células que são geralmente uniformes, pequenas e formam glândulas regulares, com pouca variação de tamanho e forma, com bordas bem definidas; no estágio 2, as células variam em tamanho, forma e as glândulas, ainda uniformes apresentam bordas irregulares; no estágio 3, as células variam ainda mais de tamanho constituindo glândulas muito pequenas, uniformes, anguladas ou alongadas e podem formar massas fusiformes ou papilíferas; no estágio 4 muitas células estão fusionadas em grandes massas amorfas ou formando glândulas irregulares, exibindo infiltração irregular e invadindo tecidos; e no estágio 5 temos o tumor anaplásico onde há um agrupamento de grandes massas celulares e invasão de outro tecidos. Em alguns casos, como no estágio 5, as células são independentes de hormônio andrógeno, sendo assim, não necessitam da testosterona para o seu desenvolvimento. Estes estágios podem ser classificados segundo a classificação de Gleason, que vai do 1 ao 10 conforme o grau de diferenciação que as células se encontram. As chances de disseminação das células podem variar de 25 a 75%, demonstrando o quanto ele torna-se agressivo (Inca, 2002; 2019b).

Pode ser avaliado o estadiamento deste câncer, verificando a extensão do quadro e o quanto disseminado pelo corpo encontra-se esta neoplasia, para isto utilizam-se os resultados da biópsia, escores de Gleason e quantificação de PSA de maneira conjunta. Dividem-se, principalmente, em quatro níveis: T1 – profissional médico não consegue detectá-lo em exame de toque e imagem, porém é detectado

por biópsia; T2 – o profissional médico consegue detectá-lo em exames de toque e imagem, tumor ainda confinado a próstata; T3 – tumor disseminou-se para além da próstata, alcançando vesículas seminais; T4 – tumor originado em órgãos próximos a próstata.

O tratamento de câncer de próstata deve ser individualizado, levando em conta idade, estágio do tumor, grau histológico, tamanho da próstata, as morbidades associadas, a expectativa de vida e os recursos técnicos disponíveis. Atualmente existem 3 tipos de tratamentos: o tratamento do carcinoma localizado T1 e T2 que inclui cirurgia de prostatectomia radical e radioterapia para tratar de maneira local o tumor; o segundo tratamento da doença localmente avançada T3 a T4 consiste em bloqueio hormonal, uso de quimioterápicos, cirurgia de prostatectomia radical e radioterapia; o terceiro tipo é o tratamento paliativo, que é indicado para pacientes em um grau muito evoluído, onde fatores como idade e questões de saúde não permitam outro tipo de tratamento, este consiste no alívio dos sintomas associados a evolução da doença, promovendo o bem-estar do paciente e o conforto aos seus familiares e cuidadores (Inca, 2002; 2019b). Em todos os estágios de tratamento citados acima, o uso de plantas medicinais/naturais pode ser utilizando, embora ainda não existam muitos estudos com eficácia comprovada no câncer de próstata. Porém, muitas plantas já são utilizadas na medicina popular, sem comprovação científica de sua eficácia e ausência de efeitos adversos (Fernández-Pomares *et al.*, 2018).

2.3.2 Câncer Colorretal

O câncer de cólon e reto são tumores malignos que ocorrem no intestino grosso. Homens e mulheres são igualmente afetados, sendo uma doença tratável e frequentemente curável quando localizada precocemente no intestino (Fang Chia, 2002; Dos Santos, 2014; Inca, 2018).

O câncer colorretal é uma das neoplasias mais comuns em homens e mulheres, representando o 3^a com maior número de novos casos (17.380), totalizando 8,1% de neoplasias. Além de apresentar alta taxa de novos casos, apresenta alta mortalidade, sendo nos homens a 4^o neoplasia que resulta em óbitos e entre as mulheres a 3^o maior (Inca, 2018).

A maioria dos tumores colorretais originam-se de pólipos adenomatosos. Tais pólipos são neoplasias benignas do trato gastrointestinal, que podem tornar-se malignas com o tempo. O tipo histopatológico mais comum é o adenocarcinoma (Cordeiro, 2004; Dos Santos, 2014); outros tipos são neoplasias malignas raras, perfazendo 2% a 5% dos tumores colorretais e requerem condutas terapêuticas específicas. As características desta neoplasia envolvem a arquitetura glandular, variação de forma, tamanho das células e seus núcleos (polimorfismo celular) e padrão da secreção de muco, o adenocarcinoma pode ser categorizado em três graus de diferenciação: bem diferenciado (grau I), moderadamente diferenciado (grau II) e mal diferenciado (grau III) (Dos Santos, 2014).

O câncer de intestino está fortemente associado a hábitos de alimentação, nutrição e atividade física. A incidência da doença vem aumentando nos últimos anos e, em paralelo, observa-se que a população está cada vez mais exposta aos fatores de risco, como uma dieta rica em carnes vermelhas, processadas (presunto, salsicha, linguiça, bacon, salame, mortadela, peito de peru e blanquet de peru) e gorduras, o sedentarismo, a obesidade, o tabagismo, o alcoolismo, e a idade acima de 50 anos (Barretos, 2016; Inca, 2019a). O consumo em excesso de carne vermelha, por exemplo, aumentam o risco em 18% no desenvolvimento desta neoplasia (Barretos, 2016; Inca, 2019a).

As carnes são submetidas a processos que envolvem altas temperaturas, resultando na produção de amins heterocíclicas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, compostos com potencial carcinogênico em pessoas com predisposição genética. Aliado a isto, as carnes vermelhas são fontes importantes de ferro-heme, nutriente essencial ao corpo, mas que em excesso pode levar à formação de compostos N-nitrosos e de formas alcenais citotóxicas oriundas da peroxidação lipídica (Inca, 2019a).

Fortes evidências associam o consumo de bebidas alcoólicas ao aumento do risco para câncer de intestino quando a quantidade ingerida é superior a 30 gramas de etanol por dia (cerca de duas doses de bebida alcoólica).

Os principais sintomas do câncer colorretal envolvem sangramentos ao evacuar, anemia sem causa aparente, alterações no hábito intestinal (diarreia ou intestino preso), desconforto abdominal com gases ou cólicas, permanência da vontade de evacuar mesmo após a evacuação, emagrecimento intenso e

inexplicado, fraqueza, fezes pastosas e escuras, além de sensação de dor na região anal (Barretos, 2016). Desta forma os tumores de cólon e reto podem ser detectados precocemente por meio de dois exames principais: pesquisa de sangue oculto nas fezes e endoscopias (colonoscopia ou retosigmoidoscopia), estes exames auxiliam na triagem dos paciente, avaliando a necessidade de exames mais invasivos para o diagnóstico (Inca, 2019a). A OMS preconiza o rastreamento sistemático a partir da pesquisa de sangue oculto nas fezes, sendo possível avaliar a extensão e gravidade do quadro (Who, 2013), em conjunto, o SUS recomenda que sejam realizadas ações de diagnóstico precoce e abordagens personalizadas para cada paciente, principalmente para indivíduos que estão inclusos nos grupos de risco: histórico familiar de câncer colorretal, suspeita de Síndrome de Lynch ou Polipose Adenomatosa (Brasil, 2010).

O diagnóstico de câncer de cólon é estabelecido pelo exame histopatológico de espécime tumoral obtido por meio da colonoscopia ou do exame de peça cirúrgica. A colonoscopia é o método preferencial de diagnóstico, por permitir o exame de todo o intestino grosso e a remoção ou biópsia de pólipos que possam estar localizados fora da área de ressecção da lesão principal (Dos Santos, 2014; Inca, 2019a). Outros exames como radiológico contrastado do colon (enema opaco), deve ser realizado apenas quando não houver acesso à colonoscopia ou quando existir contraindicação médica para esse exame (Dos Santos, 2014; Barretos, 2016; Inca, 2019a). Para diagnóstico do câncer retal, é recomendado a realização de um exame proctológico (toque retal). A identificação correta do local da lesão e a possibilidade de obtenção de espécime para exame histopatológico fazem com que a retosigmoidoscopia (rígida ou flexível) seja necessária para este diagnóstico. Nos casos confirmados da doença, a infiltração e extensão do tumor de reto devem ser avaliadas quando possível pela ultrassonografia endorretal, que tem exatidão comparada por tomografia computadorizada pélvica ou pela ressonância magnética (Dos Santos, 2014; Inca, 2019a).

O tratamento nos tumores iniciais geralmente é menos agressivo, através da retirada de pólipos e lesões pela colonoscopia ou por cirurgias com ressecções locais dos tumores. Nos tumores maiores do cólon há necessidade de cirurgia (convencional, laparoscópica ou robótica). Nos tumores do reto pode haver

necessidade de radioterapia e quimioterapia antes da cirurgia. Resumindo, o tratamento envolve radioterapia, quimioterapia e/ou cirurgia dependendo do local, do tamanho e extensão da doença no cólon ou em outros órgãos no caso de existirem metástases. Quanto mais precoce for o diagnóstico, menos agressivo será o tratamento e sua duração, proporcionando melhor qualidade de vida ao paciente (Cordeiro, 2004; Dos Santos, 2014; Inca, 2019a).

2.3.3 Câncer no Sistema Nervoso Central

De acordo com o INCA, há vários possíveis fatores de risco para o desenvolvimento deste tumor, entre eles: traumatismos na região da cabeça, algumas substâncias químicas (entre elas alguns derivados do petróleo), consumo de aspartame, além destes, outros fatores estão sendo estudados a fim de comprovar uma correlação com esta doença (Inca, 2019c).

O cérebro e a medula espinhal formam o Sistema Nervoso Central (SNC) (Inca, 2019c) e os tumores mais comuns do SNC são os gliomas (Ms, 2012; Chen *et al.*, 2017), são tumores raros, correspondendo a 2% dos todos os cânceres conhecidos, (Inca, 2019c) porém, apresentam elevada mortalidade em adultos (Ms, 2012). Histologicamente, eles compartilham características das células gliais normais e são geralmente denominados de acordo com essas semelhanças. Historicamente, os gliomas foram diagnosticados e classificados com base nesta histopatologia. Na classificação da OMS de 2007, os principais grupos de tumores gliais incluíram tumores astrocíticos, tumores oligodendrogliais, tumores oligoastrocíticos, tumores ependimários e tumores neuronais e mistas gliais-neuronais (como gangliogliomas) (Ms, 2012; Chen *et al.*, 2017).

Com o advento da genética do câncer e da caracterização molecular a compreensão da biologia do glioma cresceu imensamente, desta forma podendo proporcionar novos alvos terapêuticos e novas forma de diagnóstico (Modrek *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2017).

Os sinais e sintomas mais comuns relatados por pacientes são: dores de cabeça com alarmes, ou seja, o surgimento de uma dor de cabeça nova (para quem nunca sente esse tipo de dor), mudança do tipo de dor de cabeça, piora da intensidade (quando ela fica mais forte com o passar do tempo), aumento da frequência (quando a dor aparece mais vezes), ou quando a dor é fixa (toda vez ela

aparece no mesmo lugar). Além disso, podem ocorrer casos de epilepsia ou outras crises convulsivas, principalmente quando o paciente apresenta a crise pela primeira vez e não apresenta diagnóstico de epilepsia; perda de funções neurológicas, denominadas déficits focais, quando há perda de força ou do tato nos membros; de visão ou de audição; alterações da fala ou da capacidade intelectual (compreensão, raciocínio, escrita, cálculo, reconhecimento de pessoas); ou de comportamento (apatia, agitação ou agressividade) em relação ao padrão normal da pessoa (Inca, 2019c).

O diagnóstico da doença baseia-se em exames de imagem como a Tomografia Computadorizada (TC) e Ressonância Magnética (RM) com contraste, sendo as principais na investigação dessa doença, mas há casos especiais, mais aprofundados, onde além dos exames citados, o diagnóstico definitivo é confirmado pelo estudo histopatológico de espécime tumoral obtido por biópsia estereotáxica ou a céu aberto, sendo essencial para o planejamento terapêutico (Ms, 2012; Inca, 2019c).

O tratamento inicia-se com a neurocirurgia, onde é realizada a remoção do tumor ou de fragmento de tecido para biópsia. Após o confirmatório, o tratamento geralmente envolve quimioterapia e sessões de radioterapia (Inca, 2019c).

2.4. Antimicrobianos

A busca por novas drogas ou substâncias com potencial antimicrobiano tem crescido consideravelmente conforme o passar dos anos, isto deve-se ao uso indiscriminado tanto pela medicina, de forma preventiva, quanto pela agricultura para o controle de pragas, tornando os microrganismos cada vez mais resistentes ao que normalmente eles seriam suscetíveis (Madigan *et al.*, 2016).

A grande dificuldade encontrada no tratamento de fungos, é devido a substância antifúngica apresentar toxicidade para as células do hospedeiro, isto por que os fungos e humanos pertencem ao mesmo domínio: *Eukarya*, desta forma a maior parte da maquinaria celular é a mesma. Isso dificulta o tratamento, pois devido a esta toxicidade a maioria é utilizada de forma tópica (Madigan *et al.*, 2016; Tortora *et al.*, 2016). Assim os extratos de plantas e os óleos essenciais tem por função retardar o uso dos microbianos sintéticos e assim buscar drogas que consigam efeito

similares ou melhores, apresentando menos efeitos colaterais (Madigan *et al.*, 2016; Scur *et al.*, 2016; Soliman *et al.*, 2016).

Em 2014 a OMS publicou o primeiro relatório de resistência microbiana “*Antimicrobial resistance: global report on surveillance*” este relatório tem como foco a demonstração da resistência de patógenos comuns e o intuito deste documento é demonstrar dados sobre a verdadeira situação que se encontra a resistência microbiana, visando conseguir medidas de intervenção em saúde pública, a nível mundial, a fim de criar um plano de desenvolvimento para diminuir e combater a resistência microbiana (Who, 2014).

O que se sabe é que micro-organismos resistentes a um medicamento específico apresentam um risco aumentado e pode levar a morte do paciente, desta forma, consomem mais recursos de saúde, comparando com os pacientes infectados com o mesmo micro-organismo não demonstrando o padrão de resistência (Who, 2014).

2.4.1 Escherichia coli (E. coli)

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria encontrada naturalmente no intestino de humanos e animais, a maioria de suas cepas são inofensivas, mas algumas podem causar graves doenças transmitidas por alimentos, como é o caso da *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). Este tipo de *E.coli* produz duas toxinas, chamadas “verotoxina” ou do tipo “Shiga”, podendo ser denominada *E. coli* produtora de verotoxina (VTEC) ou *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) (Ans, 2011; Oms, 2017; Oms, 2019b; a).

As principais formas de contaminação por esta bactéria se dão através do consumo de alimentos contaminados como: carne cruas picadas, leite in natura vegetais crus mau higienizados e águas contaminadas, podendo ocorrer contaminação cruzada durante o preparo destes alimentos (Oms, 2019a). O período de incubação, isto é, o tempo entre a transmissão e o início do aparecimento dos sintomas varia de três a oito dias. Os sintomas mais comuns incluem cólicas e diarreia, que pode ser sanguinolenta, febre e vomito, porém, a maioria dos pacientes recuperam-se em dez dias (Oms, 2019a), no entanto, em pessoas mais vulneráveis, como idosos e crianças, a infecção pode agravar-se, levando à Síndrome Hemolítica

Urêmica (SHU) – caracterizada por falência renal aguda, anemia hemolítica (decorrente da destruição anormal das hemácias) e trombocitopenia (redução no número de plaquetas, responsáveis pela coagulação do sangue) (Ans, 2011).

O relatório “*Antimicrobial resistance: global report on surveillance*” demonstra que a *E. coli* está adquirindo resistência a seus principais antibióticos de uso, 86 países relatam resistência para a 3ª geração de cefalosporinas (50% dos casos) e fluoroquinolonas (92% dos casos), essas altas proporções de resistência a cefalosporinas resulta em tratamentos com os carbapenêmicos, medicamentos de uso hospitalar. Porém, pode se observar a ausência de dados epidemiológicos em certos países, dificultando verificar qual a real situação de resistência antimicrobiana no mundo (Who, 2014).

Pode-se observar que este relatório demonstra os valores de resistência por continente, desta forma, gera-se uma preocupação em relação ao continente Americano, tendo em vista que dos 15 países que disponibilizaram dados epidemiológicos, 14 apresentaram casos de *E. coli* resistentes as cefalosporinas, em conjunto, 15 países apresentaram casos de resistência para as fluoroquinolonas de 16 países pesquisados. O Brasil apresentou casos de resistência para ambos medicamentos (Who, 2014)

2.4.2. *Staphylococcus aureus* (S.aureus**)**

Desde a sua descoberta em 1880, o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*; SA) foi reconhecido como um microrganismo versátil em todo o mundo; SA pode colonizar o corpo humano, podendo ser um parte da microbiota normal da pele e do nariz (Who, 2014). Aproximadamente 30% das pessoas saudáveis são habitadas por *S. aureus*, principalmente nas narinas e pele (Rao *et al.*, 2015).

O SA é uma bactéria gram-positiva responsável por causar infecção invasiva da corrente sanguínea (Thorlacius-Ussing *et al.*, 2019). É considerado um patógeno humano oportunista e frequentemente está associado a infecções adquiridas em comunidades isoladas e nos ambientes hospitalares (Rao *et al.*, 2015). As infecções mais comuns envolvem a pele (foliculite, impetigo) e infecções em ferimentos diversos.(Anvisa, 2019). Algumas cepas de *S.aureus* produzem toxinas que podem causar uma variedade de sintomas específicos, incluindo síndrome do choque tóxico e intoxicação alimentar (Who, 2014).

Algumas infecções por este micro-organismo são agudas e podem disseminar para diferentes tecidos e provocar focos metastáticos. E em alguns casos mais graves, pode causar bacteremia, pneumonia, osteomielite, endocardite, miocardite, pericardite e meningite (Anvisa, 2019), a bacteremia por *Staphylococcus aureus* (SAB) apresenta taxas de mortalidade que atingem 20 – 25%. A ocorrência de SAB mudou ao longo do tempo e aumento nas taxas de incidência têm sido relatado em todo o mundo ao longo das últimas décadas (Thorlacius-Ussing *et al.*, 2019).

Desde a década de 1940 há descrição da resistência do SA à penicilina (β -lactâmico), isso por que o micro-organismo conseguiu produzir penicilinases, enzimas capazes de degradar anel presente na estrutura dos antibacterianos β -lactâmicos, assim tornando-se resistente (Anvisa, 2019). Com isso, o uso de meticilinas foi incorporado para o tratamento contra SA tornando-se o medicamento referência, porém, no ano de 2000 o estudo intitulado “*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Skin or Soft Tissue Infections in a State Prison --- Mississippi, 2000*” relatou que 31 presos haviam adquirido resistência a meticilina para SA (MRSA), indicando a ineficácia deste antibacteriano frente o patógeno (Centers for Disease e Cdc, 2001). Desta forma, tornou-se necessário a utilização de uma segunda linha de medicamentos, estes apresentavam um preço elevado e efeitos colaterais, onde era necessário monitoramento do paciente durante a utilização destes antibióticos, tornando o tratamento ainda mais custoso. (Who, 2014).

Em 2002 no estudo “*Staphylococcus aureus Resistant to Vancomycin --- United States, 2002*” foi observado o primeiro caso de SA resistente à Vancomicina (VRSA), este estudo descreveu que em 1996 já havia SA com resistência intermediária à Vancomicina no Japão (MIC = 8 g/mL) e em 2002 já haviam pacientes nos EUA também apresentando esta resistência intermediária. Porém, o dado mais preocupante é que foi encontrado o primeiro caso de SA resistente à vancomicina (MIC > 32 μ g/mL) em um paciente diabético de 40 anos (Centers for Disease e Cdc, 2002).

Outro problema encontrado para o combate de SA é a formação de biofilmes, gerando mais obstáculos para seu combate, Xu *et. al* (2016) em seu estudo analisou 257 amostra clinicas de isolados de SA e observou que todos apresentaram a

formação de biofilme, porém, 74,3% das bactérias formaram pouco biofilme e que biofilmes fortes apenas representavam 2,3% do total de amostras (Xu *et al.*, 2016). Ao analisar o continente americano e o Brasil em relação a MRSA é possível verificar números alarmantes, segundo dados da OMS em 2014, 15 dos 17 países que disponibilizaram dados sobre *S. aureus* demonstraram apresentar resistência a meticilina, totalizando 86% dos casos. Ao realizar uma comparação com *Escherichia coli* resistente e *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC), verificou-se que MRSA apresentavam os maiores valores de mortalidade, alcançando 82,14% dos casos (Who, 2014). No Brasil, apenas alguns estados relataram casos de resistência, desta forma, os dados não refletem o panorama a nível nacional, indicando apenas quais locais apresentam maior foco nos casos de resistência (Who, 2014). Isolados do sangue de pacientes que realizam diálise, partindo de 169 trabalhos publicados em 2010, verificou-se 53 cepas e dentre estas 43,4% apresentavam resistência, aliado a isto, em maternidades 105 cepas foram isoladas e destas 41,5% apresentavam resistência.(Who, 2014)

Pode-se observar no estudo de Huang *et al.*, (2019) “*Epidemiology and risk factors of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci infections in Zhejiang China from 2015 to 2017*” que a resistência de SA a meticilina está apresentando uma tendência mundial de diminuir gradualmente, a justificativa se dá pela descontaminação com uso de álcool e produtos à base de álcool, reduzindo a transmissão destas cepas de MRSA (Huang *et al.*, 2019).

2.4.3. *Klebsiella Pneumoniae*

As bactérias do gênero *Klebsiella* são frequentes colonizadores do intestino em humanos e outros vertebrados. Infecções por *K. pneumoniae* (KP) são particularmente comuns em hospitais entre indivíduos vulneráveis, como pré-termo e pacientes com deficiência imunológica, diabetes ou transtornos por uso de álcool (Who, 2014; Teng *et al.*, 2019).

Os locais mais comuns de infecção são o trato urinário e respiratório e em recém-nascidos, infecções na corrente sanguínea. As taxas de mortalidade por pneumonia adquirida no ambiente hospitalar por KP pode exceder 50% em pacientes vulneráveis, mesmo quando tratados com medicamentos antibacterianos apropriados. Como outras bactérias, KP pode se espalhar rapidamente entre os

pacientes, levando a surtos nosocomiais, isso frequentemente ocorre em unidades de terapia intensiva (UTIs) e instalações neonatais. Ainda existem relatos da propagação de *K. pneumoniae* entre diferentes hospitais e através das fronteiras do país, isto ocorre devido a transferência de pacientes infectados ou colonizados (Who, 2014; Frattari *et al.*, 2019).

Semelhante a *E. coli*, KP adquire resistência a múltiplas drogas antibacterianas, principalmente através de transferência de elementos genéticos móveis, como transposons ou plasmídeos (Frattari *et al.*, 2019). Em contraste com *E. coli*, *K. pneumoniae* carrega um gene de resistência natural, responsável por gerar β -lactamase, resultando na diminuição da eficácia de penicilinas de amplo espectro, como a ampicilina e amoxicilina. Apresentam resistência a outros antibacterianos amplamente utilizados como o Cotrimoxazol e fluoroquinolonas (por exemplo, ciprofloxacino). Isso significa que há poucas opções restantes para tratamento oral de infecções por *Klebsiella* em muitas partes do mundo. (Who, 2014)

Em 1982, o primeiro caso de KP resistente a beta-lactâmicos de amplo espectro (ESBL) foi identificado durante um surto de infecções hospitalares na Alemanha. Desde então, mais de 200 variantes do ESBL foram identificadas, algumas das quais se espalharam rapidamente no mundo todo. Além disso, muitas variantes ESBL inicialmente identificadas em *K. pneumoniae* também foram verificadas em *E. coli*. As cepas positivas para ESBL são resistentes a todos os antibacterianos beta-lactâmicos de espectro estendido, como as cefalosporinas e, para essas cepas, os carbapenêmicos são a principal opção de tratamento restante (Who, 2014; Teng *et al.*, 2019) porém, já a muito disseminada a resistência a carbapenêmicos, denominada como *Klebsiella pneumoniae* produtora de Carbapenemase (KPC), o que a torna uma ameaça crescente para pacientes hospitalizados (Teng *et al.*, 2019). Neste sentido, são necessárias novas moléculas ou compostos que apresentem ação antimicrobiana, a fim de combater efetivamente estes micro-organismos, aumentando a eficácia do tratamento (Frattari *et al.*, 2019).

Candida albicans

A *Candida albicans* (CA) é um fungo comensal comum no organismo humano, fazendo parte da microbiota do trato gastrointestinal, trato urogenital, boca, pele e sistema respiratório de adultos saudáveis (Xu *et al.*, 2019).

Nos últimos 50 anos houve um aumento significativo da incidência de infecções fúngicas, tornando-se uma prioridade na saúde a nível global (Castillo *et al.*, 2019). A CA torna-se oportunista quando diminui-se a quantidade de outras bactérias presentes nestes mesmos locais, desta forma, é associada principalmente com infecções nos órgãos sexuais (Guo *et al.*, 2017).

A *C. albicans* está relacionada com infecções na pele e candidíases profundas ou disseminadas (El-Houssaini *et al.*, 2019). A infecção mais comum relacionada a este micro-organismo é a Candidíase vulvovaginal (CVV), embora seja uma infecção não invasiva, continua sendo a infecção mais frequente que afeta as mulheres, aproximadamente 75% tem um episódio com *C. albicans* (El-Houssaini *et al.*, 2019), outro estudo afirma que uma em cada duas mulheres durante a sua vida apresentarão episódios de CVV (Blostein *et al.*, 2017). Esta infecção apresenta um tratamento simples e de fácil acesso, porém, dados dos EUA demonstram que em 2017 o custo gerado com o tratamento ficou em torno de U\$2,84 bilhões de dólares, tendo em vista que algumas pacientes apresentavam casos de recorrência da infecção (Blostein *et al.*, 2017).

A candidíase ocasiona desconforto, afetando adversamente a qualidade de vida, a saúde mental e a atividade sexual dessas mulheres, os sintomas mais comuns são: eritema vulvar, escoriação, prurido e corrimento vaginal (Blostein *et al.*, 2017). O tratamento da candidíase baseia-se em quatro classes de antifúngicos utilizados: azóis (fluconazol), polienos, fluopirimidinas e as equinocandinas, porém, existem relatos da resistência do uso destes antifúngicos para o combate de candidíase, principalmente ao fluconazol que é o medicamento referência (El-Houssaini *et al.*, 2019).

Estudos demonstram que, cada vez mais, CA apresenta resistência sobre fluconazol e outros antifúngicos (Kumar e Shukla, 2010; El-Houssaini *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2019). Este fungo possui componentes que podem ser considerados fatores de virulência: aderência a superfície celular, a formação de biofilme e a produção de enzimas hidrolíticas (Castillo *et al.*, 2019), essas características fazem com que o tratamento para *C. albicans* torne-se mais difícil pois o organismo acaba produzindo mecanismos de defesa e impedindo a entrada ou atuação do agente antifúngico (Guo *et al.*, 2017).

OBJETIVOS

Geral:

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito antimicrobiano e na proliferação celular dos extratos etanólicos dos frutos de *Psidium cattleianum* Sabine (araçá amarelo e vermelho) em linhagens de câncer.

Específicos:

Avaliar a composição bromatológica e de compostos fenólicos dos extratos etanólicos dos frutos de araçá amarelo e vermelho.

Verificar a atividade antifúngica dos extratos etanólicos de *Psidium cattleianum* Sabine frente a *Candida albicans*.

Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de *Psidium cattleianum* Sabine frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase.

Verificar se os extratos etanólicos de *Psidium cattleianum* Sabine apresentam atividade antiproliferativa frente a células tumorais de câncer de próstata, câncer de colorretal e glioma.

Parte II

Os frutos do araçá *Psidium cattleianum* Sabine amarelo e vermelho apresentam atividade antimicrobiana, antifúngica e citotóxica em linhagens de câncer

Félix Roman Munieweg¹, Jean Ramos Boldori¹, Ticiane da Rosa Pinheiro¹, Cheila Denise Ottonelli Stopiglia¹, Andréia Quatrin², Tatiana Emanuelli², Márcia Vizzotto³,
Cristiane Casagrande Denardin^{1*}

¹ Universidade Federal Do Pampa, Campus Uruguaiana, BR 472, Km 592, Uruguaiana, RS, Brazil.

² Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

³ Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

*Autor correspondente: cristianedenardin@unipampa.edu.br. Tel: +55 55 9 9985-8079

Manuscrito em preparo para submissão ao periódico *Food Research International*

1 **Atividade antimicrobiana e citotóxica em linhagem HT-29 de câncer dos frutos de *Psidium cattleianum***
2 *Sabine* (araçá)

3 Félix Roman Munieweg¹, Jean Ramos Boldori¹, Ticiane da Rosa Pinheiro¹, Cheila Denise Ottonelli
4 Stopiglia¹, Andréia Quatrin², Tatiana Emanuelli², Márcia Vizzotto³, Cristiane Casagrande
5 Denardin^{1*}

6
7 ¹ Universidade Federal Do Pampa, Campus Uruguaiiana, BR 472, Km 592, Uruguaiiana, RS, Brazil.

8 ² Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria
9 (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

10 ³ Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

11
12 *Autor correspondente: cristianedenardin@unipampa.edu.br. Tel: +55 55 9 9985-8079

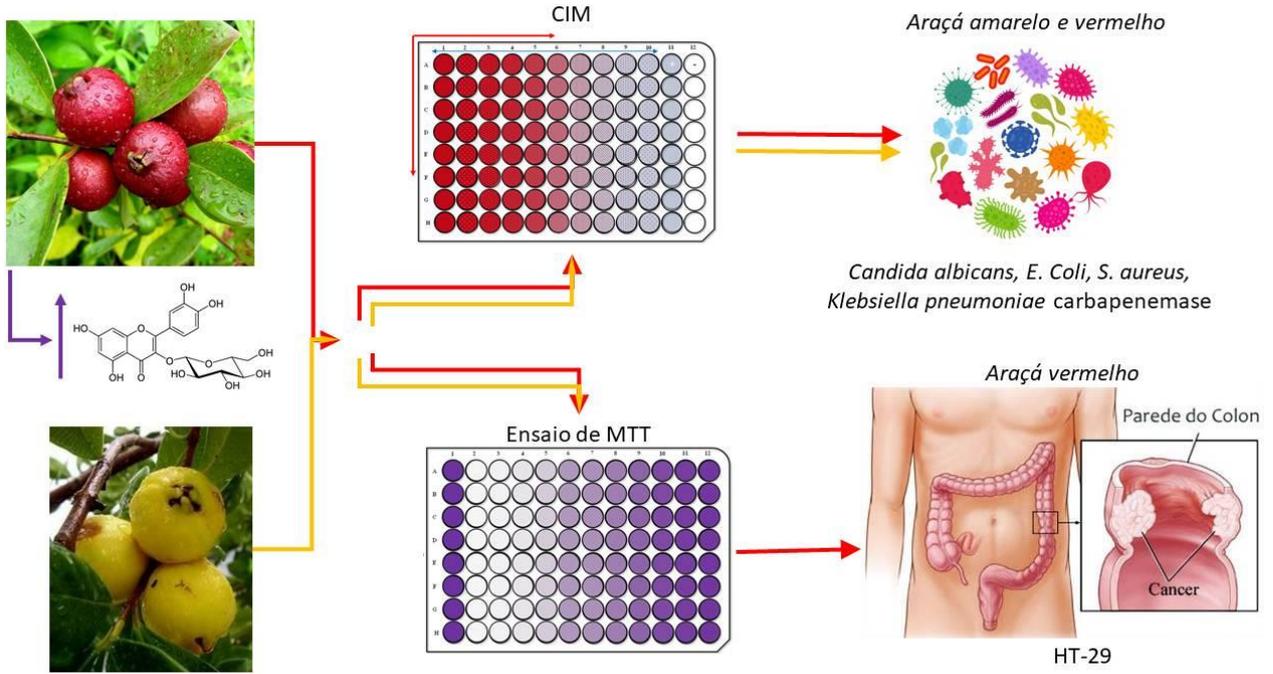
13
14 **Keywords:** Brazilian native fruit; antimicrobial activity; antiproliferative;

15
16
17 **Abstract**

18 Cancer is a disease that increasingly affects the population due to its lifestyle and aging.
19 Microbial infections, in turn, are still considered a health problem, as microorganisms over the
20 years have become more resistant to current medications, reducing the effectiveness of treatments.
21 Araçá is a fruit of the araçazeiro, native of Brazil and has two varieties: yellow and red, are
22 common fruits of the biome and rich in nutrients, mainly in total dietary fibers and phytochemical
23 compounds. The objective of this work was to evaluate the antimicrobial and antiproliferative effect
24 of hydroalcoholic extract fruit araçá yellow and red on microorganisms of pharmacological interest
25 and cancer cell lines. The fruits present differences of phytochemical compounds and we observed
26 that the red araca has a greater amount of anthocyanins and the yellow araca has a greater quantity
27 of derivatives of the caffeic acid. In addition, red araca extract had a cytotoxic effect for the
28 colorectal cancer strain at the concentration of 50 EAC / ml. In addition, were demonstration that
29 the extracts of araca showed an antimicrobial effect on all tested microorganisms, with the observed
30 effect against *Candida albicans*, with 78.12 EAC / ml for yellow araca and 39; 06 EAC / ml for red
31 araca in the MIC test. We conclude that extracts of arachis fruits have promising biological effects
32 and intend to further evaluate the pharmacological potential of extracts as antifungals.

34 **Abstrat grafic**

35



36

37

38

39 1. Introdução

40
41 O Brasil é um país de dimensões continentais e apresenta um rico bioma com características
42 mundiais, destacando-se o grande número de frutas nativas, consideradas muitas vezes como
43 exóticas (Sucupira, da Silva, Pereira, & da Costa, 2015) seja pelo formato, gosto ou valor. Algumas
44 já são bem conhecidas, cujos frutos podem ser consumidos e são potencialmente utilizadas como:
45 goiaba (*Psidium guajava*), açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.), graviola (*Annona muricata* L.) e pitanga
46 (*Eugenia uniflora* L.) (Brasil, 2015; Medina et al., 2011), porém outras tantas apresentam inúmeras
47 possibilidades de uso e pesquisa, mas ainda com utilização e consumo limitados (Fetter, 2010)

48 Entre as várias frutas nativas da nossa flora, e com potencial econômico, se destaca o Araçá
49 (*Psidium cattleianum* Sabine), também conhecido como “araçá do mato, araçá rosa” que, de acordo
50 com (Rocha, 2008) é uma planta arbórea (de 2 a 5 metros de altura), frutífera e que pertence à
51 família Myrtaceae, ocorrendo naturalmente nas regiões compreendidas entre os estados da Bahia e
52 Rio Grande do Sul, se adaptando facilmente a uma variedade de climas. No Rio Grande do Sul esta
53 fruta tem ocorrência ao longo de todo o estado, mas o Centro de Pesquisa da EMBRAPA Clima
54 Temperado (Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil) desenvolve o melhoramento genético desta planta
55 buscando, também, difundí-la entre a comunidade.

56 Os frutos do araçazeiro são pequenas bagas (aproximadamente 2 cm), com polpa
57 translúcida e carnosa, que apresentam duas variedades quando maduras, amarelo e vermelho, o que
58 sugere a existência de dois morfotipos, de acordo com (Fetter, 2010; Rocha, 2008). Os frutos
59 amarelo e vermelho da EMBRAPA Clima Temperado são referentes aos cultivares “Ya-cy” e
60 “Irapuã”, respectivamente, conforme (Brighenti, Gaetti-Jardim, Danelon, Evangelista, & Delbem,
61 2011; Franzon, 2009). São considerados frutos com forte atividade antioxidante, devido à presença
62 de moléculas de bioatividade conhecida (Fetter, 2010), sendo ricos em compostos fenólicos,
63 carotenoides e ácido ascórbico (Medina et al., 2011), sendo este último em quantidade até quatro
64 vezes maior do que nas frutas cítricas (Ribeiro et al., 2014)

65 Com pesquisas acerca da composição do araçá e sua caracterização (Biegelmeier et al.,
66 2011; Medina et al., 2011) e tendo em vista o potencial de exploração comercial, para uso como
67 alimento funcional (ou nutracêutico) e uso na indústria farmacêutica e de alimentos (Franzon, 2009;
68 Ribeiro et al., 2014), o araçá se constitui em uma alternativa para a agricultura regional com boas
69 perspectivas econômicas (Fetter, 2010; Franzon, 2009). Na medicina popular, o uso do araçá tem
70 sido indicado no tratamento de hemorragias e diarreia (Denardin et al., 2015). Ainda, já existem
71 alguns estudos na literatura, como o realizado por (Scur et al., 2016) para analisar atividade
72 antimicrobiana e antioxidante das folhas, na formulação de óleos e extratos; e análise
73 antimicrobiana de extrato de folhas contra microrganismos da mucosa oral feito por (Alvarenga et

74 al., 2013). Outro estudo, porém utilizando extrato da fruta foi conduzido por (Medina et al., 2011),
75 que mostrou o efeito antiproliferativo sobre célula de câncer de pulmão MCF-7 e célula de câncer
76 de intestino Caco-2 e atividade antimicrobiana sobre *S. enteritidis* (ATCC 13076), além de
77 atividade antioxidante, devido à composição química, provavelmente relacionada aos diversos
78 compostos fenólicos presentes. Porém, deve-se considerar que ainda há limitadas informações
79 científicas disponíveis, quanto aos seus efeitos, além de uma carência de estudos outras formas de
80 uso dos frutos.

81 A utilização de compostos naturais com finalidade terapêutica na busca por melhorias na
82 saúde tem dado origem a inúmeras pesquisas, cujos resultados poderão ser utilizados para aumentar
83 a propaganda e conscientizar um maior número de pessoas a consumir mais frutas, como o araçá,
84 que são pouco conhecidas pela população em geral. O Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine), planta
85 nativa da região, possui composição química já conhecida, possuindo compostos com ação
86 terapêutica e nutricional, porém pouco se sabe sobre os efeitos antioxidantes e farmacológicos de
87 extratos das suas frutas. Assim, torna-se de grande importância a avaliação farmacológica em
88 linhagens de câncer e dos efeitos antioxidantes e antimicrobianos dos extratos das frutas do
89 araçazeiro. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antimicrobiano e antiproliferativo
90 dos extratos da fruta Araçá amarelo e vermelho sobre microrganismos de interesse farmacológico e
91 linhagens de células de câncer.

92

93 **2. Material e métodos**

94 **2.2 Material vegetal e preparo do extratos**

95 Os frutos utilizados foram de duas variedades de *Psidium cattleianum* Sabine (Araçá
96 amarelo e vermelho), colhidos em seu estágio maduro nas instalações da EMBRAPA-CPACT-
97 Pelotas/RS, onde estes foram congelados previamente para transporte, em caixas térmicas e na
98 presença de gelo. Após o recebimento, os frutos permaneceram congelados a -20°C até o momento
99 do uso para o preparo do extrato e para as análises físico-químicas.

100 Para a obtenção do extrato, os frutos foram descongelados e triturados, sendo a amostra
101 composta de polpa e cascas das frutas. Para a extração dos compostos fenólicos, trezentas gramas
102 de amostra congelada foram homogeneizados com 900 mL de uma solução etanólica (95°GL) em
103 béquer protegido da luz, utilizando-se um misturador ultra-turrax por 5 minutos, em seguida,
104 colocadas em agitador magnético por 30 minutos. Após centrifugação por 5 min a 3.000 rpm, o
105 sobrenadante foi coletado. Submeteu-se o resíduo a nova extração como descrito acima, misturando
106 o sobrenadante deste com o anterior. O sobrenadante recuperado passou pelo processo de
107 evaporação em rota evaporador, utilizando balão âmbar em temperaturas entre 39-41°C, pressão

108 105 Pa e 50 rpm. O extrato seco obtido foi ressuspensão em água milli-q, sendo utilizado para as
109 determinações de compostos fenólicos totais (Swain & HILLIS, 1959). Os resultados de compostos
110 fenólicos totais foram expressos em Equivalentes de ácido clorogênico/mL (EAC/mL) utilizando-se
111 uma curva padrão de ácido clorogênico.

112

113 **2.3. Análises físico-químicas dos frutos**

114 As análises físico-químicas realizadas foram: umidade, matéria seca, cinzas de acordo com
115 métodos da AOAC (Chemists & Chemists, 1920); proteínas pelo método de Kjeldhal (AOAC,
116 1995); lipídios pelo método de Bligh e Dyer (Bligh & Dyer, 1959); pH por potenciometria e acidez
117 total (Lutz–OAL, 2008). Os carboidratos foram calculados por diferença como extrativos não
118 nitrogenados na composição centesimal dos frutos.

119

120 **2.4. Quantificação de compostos fenolicos por HPLC-PDA**

121 A composição dos compostos fenólicos nos extratos de araçá foi analisada por meio de um
122 HPLC de proeminência CBM-20A (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com forno degenerador
123 (DGU20A5 prominence, Shimadzu, Japão), coluna (CTO-20A, Shimadzu, Japão). e acoplado a um
124 detector de arranjo de fotodiodos (proeminência SPDM-20A, Shimadzu, Japão). Os compostos
125 foram separados numa coluna Hypersil Gold C-18 de fase reversa (tamanho de partícula de 5, 150
126 mm, 4,6 mm) utilizando as seguintes fases meias: (A) metanol a 5% (v / v) em água acidificada a
127 0,1% (v / v, ácido fórmico grau 88%, JT Baker® ACS) e solvente (B) 0,1% (v / v) de ácido fórmico
128 em acetonitrilo.

129 Os espectros de absorção foram avaliados na faixa de 200 a 800 nm. As bandas
130 características dos espectros de absorção UV-visível foram usadas para classificar os compostos nas
131 diferentes classes de compostos fenólicos. Os derivados de hidroxibenzoato e taninos foram
132 quantificados a 280 nm e expressos como equivalentes de ácido gálico, os derivados de
133 hidroxicinamato foram quantificados em 320 nm e expressos como equivalentes de ácido cafeico,
134 os flavonóis foram quantificados em 360 nm e quantificados como equivalentes de miricetina e
135 antocianinas. quantificado a 520 nm e expressou pelargonidina 3-glicosídeo.

136

137 **2.5. Atividade antiproliferativa**

138 O efeito antiproliferativo dos extratos foi testado em células cancerosas C6 (Gliom), HT-29
139 (adenocarcinoma colorretal) e DU-145 (câncer de próstata) enquanto células de fibroblastos
140 embrionárias de rato 3T3 foram usadas como controle. Foram utilizados meio RPMI 1640 e DMEM
141 (Gibco BRL, Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) contendo soro fetal bovino (10% v / v) na presença

142 de antibióticos (100U / mL de penicilina G, 100 g / mL de estreptomicina, Sigma) para cultura de
143 células ($2,5 \times 10^4$ células / poço). Linhas celulares foram colocadas em placas de 24 poços,
144 depositando 500 μ L por poço e mantendo-se por 24 horas a 37 ° C em atmosfera contendo 95% de
145 O₂, 5% de CO₂ e 100% de umidade relativa. Após a incubação, o meio foi removido de cada poço
146 deixando as células no fundo. Estas células foram então expostas a novos meios contendo
147 concentrações de extrato (2,5; 5; 10; 25, 50 μ g EAC / mL) com quatro repetições para cada
148 concentração. Após a incubação por 24 h, avaliar a citotoxicidade e viabilidade do ensaio MTT
149 descrito por (Denardin et al., 2014). Essas concentrações foram escolhidas com base em estudos
150 preliminares que verificaram, a partir de um pool de extratos de araquá, um IC₅₀ a 73,60 μ g EAC /
151 ml (araquá Amarelo) e 83,38 μ g EAC / ml (araquá Vermelho) em 24 horas de tratamento. Os dados de
152 absorvância foram correlacionados com as células viáveis e os resultados foram expressos em% de
153 sobrevivência celular em comparação com o tratamento de controlo composto por meios cultivados
154 com células.

155 **2.7. Atividade antimicrobiana**

156 A concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos, fluconazol e cloronfenicol, utilizando
157 técnicas de microdiluição em caldo, conforme descrito pelo *Clinical and Laboratory Standards*
158 *Institute* para leveduras, descrito por (Daboit et al., 2009) com modificações. As cepas utilizadas
159 foram *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Strinchai coli*. e *Klebsiella pneumoniae*
160 carbapenamase foram expostos nas concentrações que variaram de; 1250 á 2,44 μ g EAC / mL.
161 Fluconazol foi utilizado como farmaco de controle positivo para *candida albicans* e cloranfenicol
162 para bactérias e o controle negativo foi apenas caldo. Após as placas de microdiluição foram
163 incubadas a 35 ° C por 24 horas, e a interpretação do resultado foi através da quantidade de
164 crescimento nos diferentes poços contendo o agente antifúngico e antibacteriano, visualmente, com
165 a quantidade de crescimento no controle de crescimento bem para cada microrganismo utilizado em
166 cada série de testes. O valor de CIM dos extratos foi definido como a menor concentração capaz de
167 inibir o crescimento microbiano.

168 **Análise estatística**

169 Os dados foram relatados como média \pm DP. Resultados dos dados físico-químicos foram
170 analisados usando o teste t pareado usando como significância (P <0,05). Foram analisados pelos
171 dados da atividade antiproliferativa realizada ANOVA one-way seguida do teste de Tukey (P
172 <0,05). Todas as análises e gráficos foram realizados utilizando o software estatístico GraphPad
173 Prism7 for Windows (Prism, 2008).

174

175 **Resultados**

176 Os resultados de composição físico-química dos frutos de araçá estão na Tabela 1. De uma
177 forma geral observamos que o araçá é um fruto rico em nutrientes e compostos antioxidantes,
178 principalmente no que diz respeito a fibra alimentar. Podemos observar que o araçá vermelho
179 apresentou significativamente maior conteúdo de matéria seca, carboidratos, fibra alimentar total e
180 insolúvel, proteína, valor calórico, pH e uma maior concentração de sólidos solúveis totais em graus
181 brix, quando comparado com o araçá amarelo. Por outro lado, o araçá amarelo apresentou maior
182 quantidade de minerais, água e fibra solúvel (Tabela 1). Destacamos que embora sejam da mesma
183 espécie os frutos apresentam diferenças marcantes na composição química, o que pode ser utilizado
184 para uma exploração nutricional diferenciada dos frutos.

185

186 Tabela 1. Composição físico-química dos frutos de araçá amarelo e vermelho

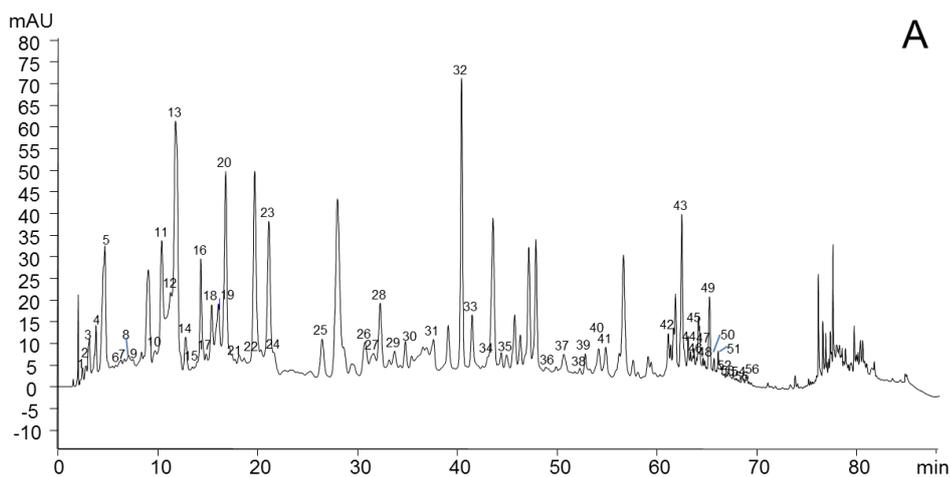
	Araçá amarelo	Araçá vermelho
Massa seca	18,14±0,16 ^b	20,75±0,09 ^a
Umidade	81,86±0,16 ^a	79,25±0,09 ^b
Cinzas	0,90±0,01 ^a	0,79±0,01 ^b
Carboidratos	16,26±0,23 ^b	18,56±0,12 ^a
Fibra alimentar total	5,36±1,51 ^b	7,80±1,02 ^a
Fibra solúvel	2,43±1,33 ^a	0,66±0,45 ^b
Fibra insolúvel	2,93±0,18 ^a	7,48±1,96 ^b
Proteína bruta	0,74±0,02 ^b	0,92±0,04 ^a
Lipídios totais	0,67±0,12	0,56±0,14
Valor energético total	69,11±1,87 ^b	74,17±0,75 ^a
Ph	3,56±0,00 ^b	3,61±0,01 ^a
Acidez total (100g de ácido cítrico)	24,51±1,03	23,02± 0,22
Sólidos solúveis totais (°Brix)	10,01 ± 0,11 ^b	13,50 ± 0,14 ^a
Compostos fenólicos (µg Eq.Ac. clorogênico/mL)	5517,87 ± 482,98	5209,61 ± 302,09

187 Valores expressa em % (g/100 g, base úmida) e valor energético total (Kcal/100g, base úmida) de frutas em média ±
188 desvio padrão. As médias seguidas de letras diferentes apresentam diferença significativa pelo teste T com p≥0,05
189 (n=3).

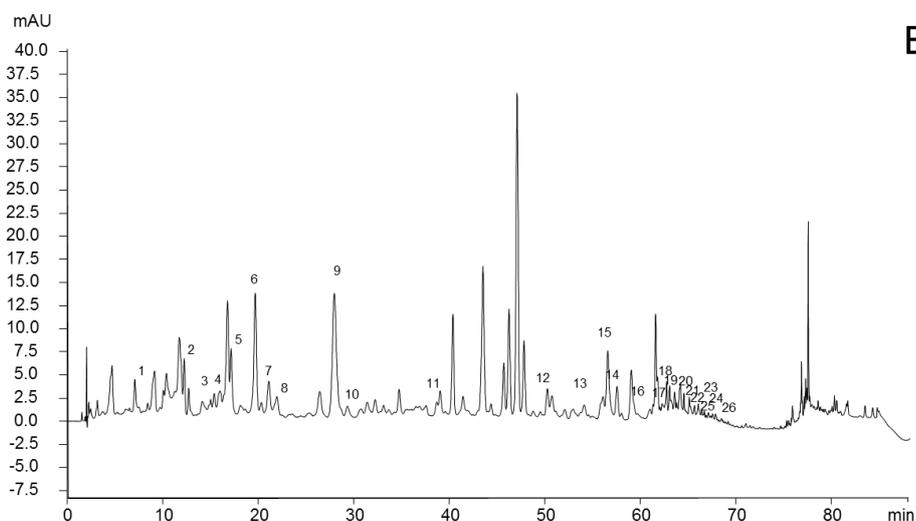
190

191 Avaliando a composição de compostos fenólicos majoritários nos frutos do araçá,
192 observamos que as diferenças nas variedades amarela e vermelha também estão presentes (Tabela
193 2). Observamos nos cromatogramas das Figuras 1 e 2 que o araçá é rico em compostos derivados de
194 hidroxibenzoato, ácido hidroxicinamato e flavonoides e antocianinas. Observamos que ambos os

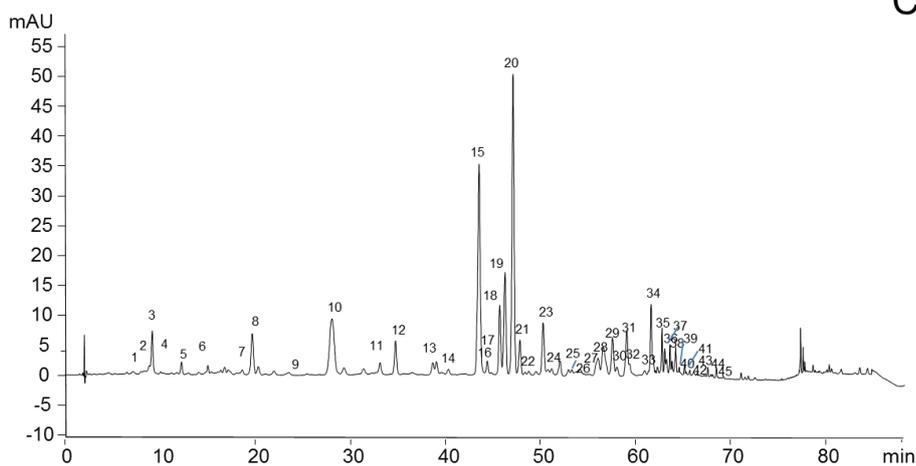
195 frutos apresentam quantidades muito semelhantes de derivados do hidroxibenzoato e flavanóis. Por
196 outro lado, o extrato de araçá amarelo apresentou uma quantidade muito maior de derivados de
197 hidroxicinamato, enquanto que o araçá vermelho apresentou um maior conteúdo de antocianinas em
198 relação ao araçá amarelo (Tabela 2; Figura 2 e 3).
199



A



B



C

200

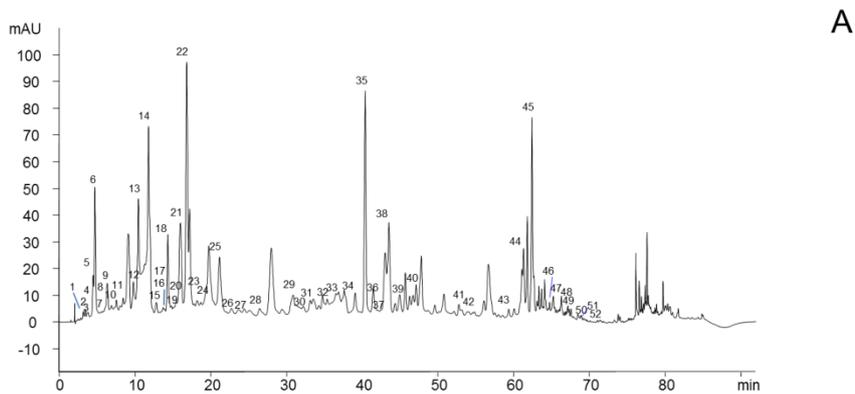
201

202

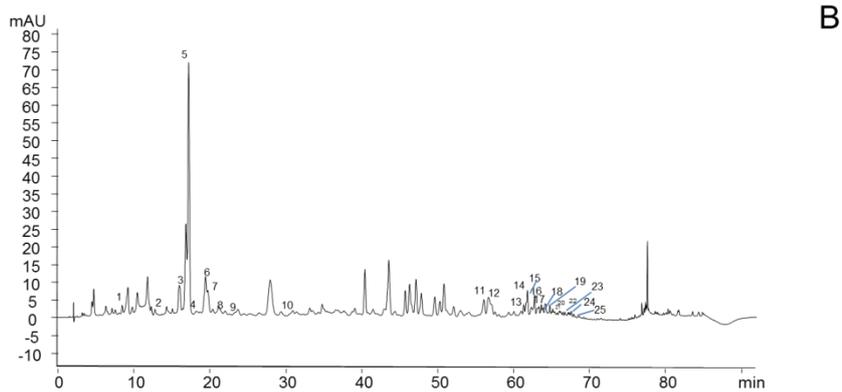
203

204

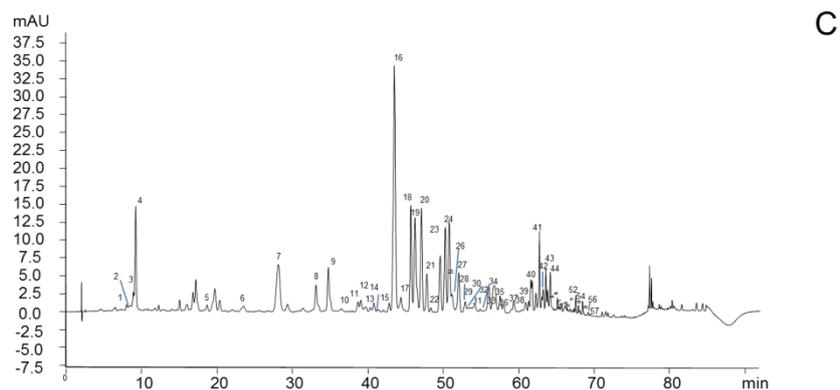
Figura 1: Cromatogramas da fração polifenólica do extrato de aração amarela a 280 nm para avaliar os derivados de hidroxibenzoato (A), a 320 nm para avaliação de derivados de hidroxicinamato (B) e a 360 nm para avaliação de flavonoides (C). Os números foram usados para rotular os picos que exibiam espectros de absorção UV-visíveis característicos da classe de compostos fenólicos mostrada em cada painel.



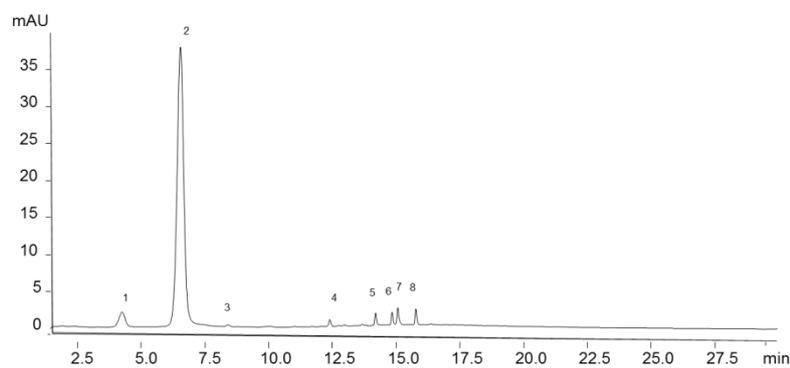
A



B



C



D

205

206

207

208

209

Figura 2: Cromatogramas da fração polifenólica do extrato de aração vermelha a 280 nm para avaliar os derivados de hidroxibenzoato (A), a 320 nm para avaliar derivados de hidroxicinamato (B), a 360 nm para avaliar flavonoides (C) e a 520 nm para avaliar antocianinas. Os números foram usados para rotular os picos que exibiam espectros de absorção UV-visíveis característicos da classe de compostos fenólicos mostrada em cada painel.

210 Tabela 2: Composição de compostos fenólicos no extrato de araçá amarelo e vermelho avaliado por
 211 HPLC-PDA

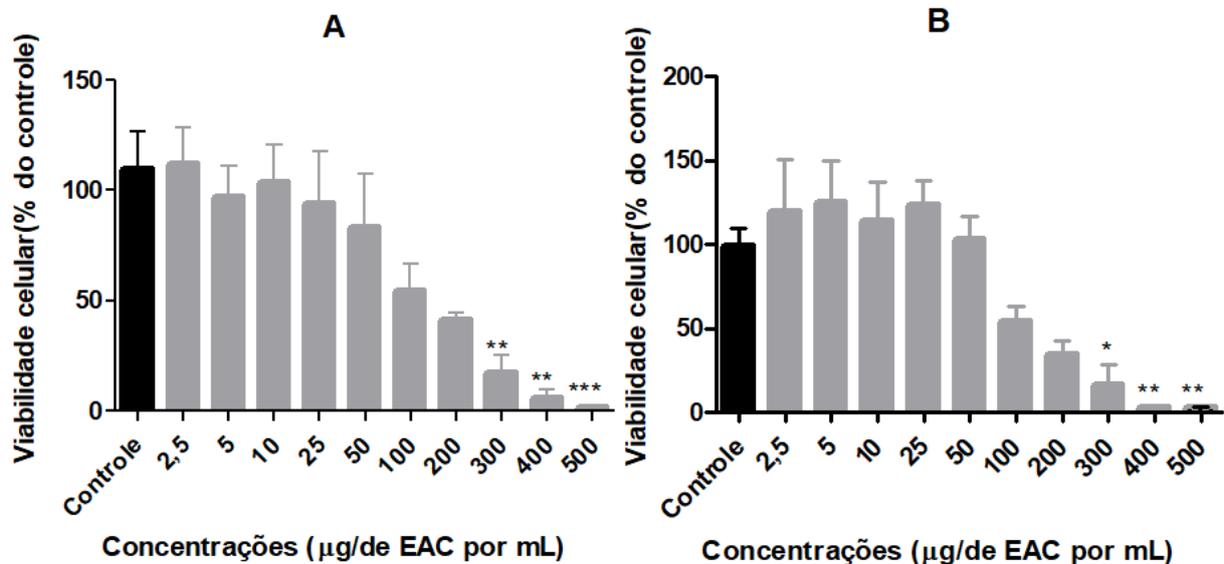
	Araçá amarelo (mg / 50 mL de extrato)	Araçá vermelho (mg / 50 mL de extrato)
Derivados de hidroxibenzoato (mg eq. Ácido gálico / 50mL de extrato)	21,45	22,17
Derivados de hidroxicinamato (mg eq. Ácido cafeico / 50mL de extrato)	22,84	1,84
Flavonóis (mg eq. Miricetina / extrato de 50mL)	7,93	7,76
Antocianinas (mg eq. Pelargonidina-3-glucosídeo / 50mL extrato)	Nd	2,11

212 Nd: não determinado porque o araçá amarelo não exibia pigmentos vermelhos ou roxos.

213

214 A fim de avaliar potenciais atividades farmacológicas dos frutos de araçá, primeiramente
 215 utilizamos linhagens celulares de câncer para avaliar a citotoxicidade. Utilizamos a linhagem de
 216 fibroblasto 3T3 como controle para verificar se os extratos dos frutos de araçá apresentavam
 217 toxicidade. Na figura 3 temos a curva de viabilidade celular dos extratos de araçá amarelo e
 218 vermelho. Observamos que em ambos os extratos temos uma redução significativa na viabilidade
 219 celular a partir da concentração de 300ug EAC/ml. A partir disso observamos que as concentrações
 220 foram escolhidas com base em estudos preliminares que verificaram, a partir dos testes de extratos
 221 de araçá nos poços, um IC50 a 73,60 µg EAC / ml (araçá Amarelo) e 83,38 µg EAC / ml (araçá
 222 Vermelho) em 24 horas de tratamento. Portanto, somente foram utilizadas concentrações menores
 223 que a IC50 dos extratos para os testes com as linhagens de câncer (Figura 3).

224



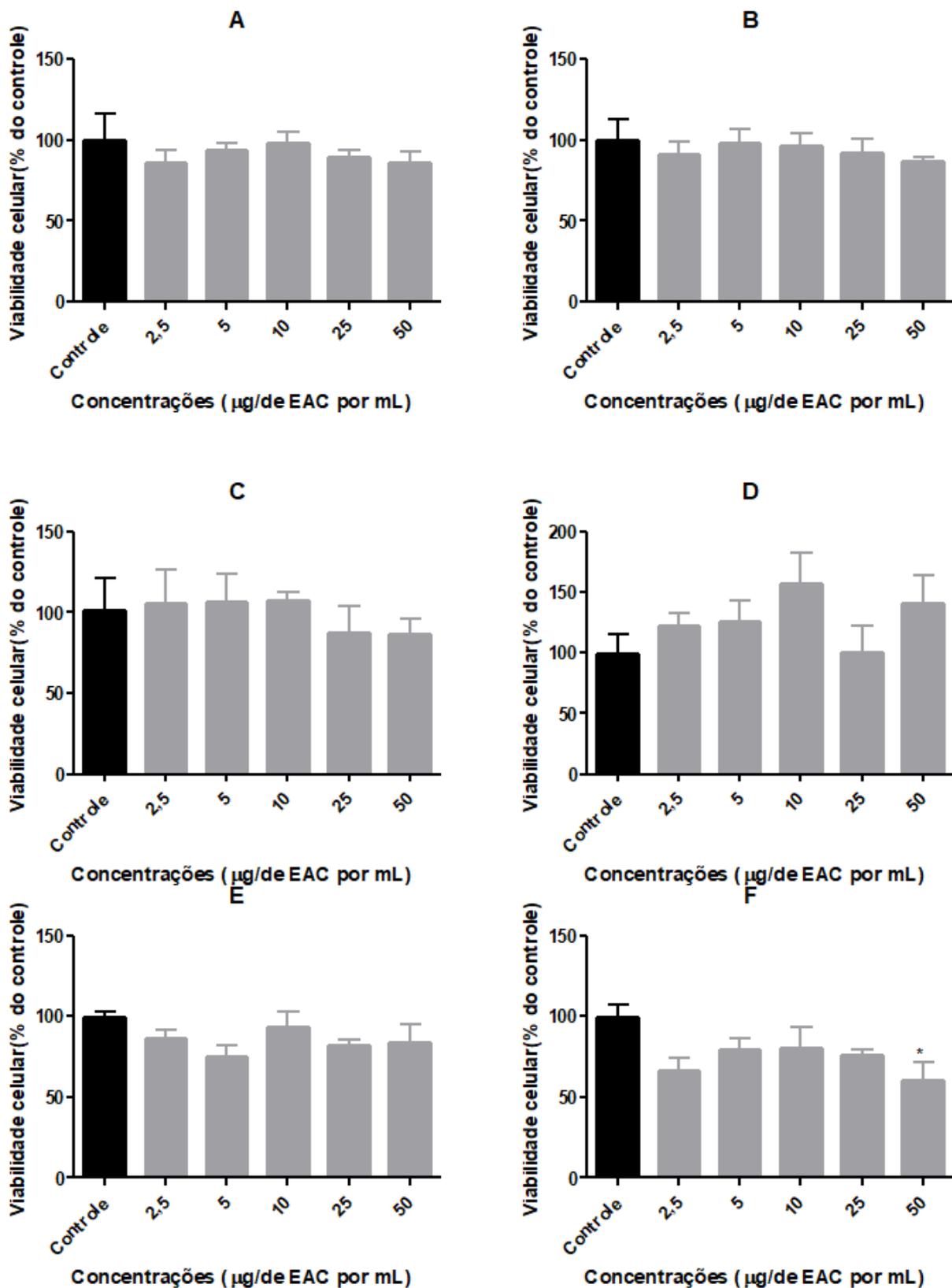
225

226 Figura 3. Efeito de extratos de aglomerados nas células 3T3 viabilidade relativa em 3T3, em relação ao controle (A)
 227 representa o extarto amarelo e (B) garra vermelha, determinada pelo ensaio MTT. Os dados correspondem à média de
 228 três experiências independentes \pm desvio padrão. * $p < 0,005$ e ** $p < 0,001$ *** $p < 0,0001$ indicam diferenças
 229 significativas entre as linhas celulares tratadas e controle.

230

231 Para avaliar se os extratos de araçá amarelo e vermelho apresentam atividade citotóxica
 232 frente a células de câncer, utilizamos as linhagens C6 (glioma), DU145 (câncer de próstata) e HT-
 233 29 (adenocarcinoma colorretal). Observamos que somente o extrato de araçá vermelho apresentou
 234 redução significativa na viabilidade celular na concentração de 50 µg EAC/mL na linhagem HT-29
 235 (Figura 4F). Não observamos redução na viabilidade celular em nenhuma das outras linhagens
 236 celulares estudadas (Figura 4).

236



237
 238 Figura 4. Efeito de extratos de clusters em células tumorais, (A) C6, (C) DU145, (E) HT-29 expostos ao extrato de
 239 araca amarela e (B) C6, (D) DU145, (F) HT-29 determinado pelo ensaio MTT. Os dados correspondem à média de três
 240 experiências independentes \pm desvio padrão. * $p < 0,005$ indica diferenças significativas entre as linhas celulares tratadas
 241 e controle.

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

Quando avaliamos a atividade antimicrobiana dos extratos de araçá, observamos que tanto o araçá amarelo quanto o araçá vermelho foram capazes de apresentar atividade inibitória sobre todos os microorganismos testados. Observamos que a CIM para *Staphylococcus aureus* foi de 156,25 µg EAC/mL; e *Escherichia coli* foi de 312,5 µg EAC/mL tanto para o araçá amarelo quanto para o vermelho. Para *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase observamos que embora os dois extratos de araçá tenham atividade inibitória, o araçá vermelho foi mais efetivo pois apresentou uma MIC menor de 625 µg EAC/mL (Tabela 4).

Tabela 3. Atividade antimicrobiana de extratos de araçá utilizando o método de concentração inibitória mínima (CIM)

	<i>Staphylococcus aureus</i> (n=3)	<i>Escherichia coli</i> (n=3)	<i>Klebsiella Pneumoniae</i> Carbapenemase (KPC) (n=2)	<i>Candida albicans</i> (n=6)
Araçá amarelo ¹	156,25	312,5	1250	78,12
Araçá vermelho ¹	156,25	312,5	625	39,06
Cloranfenicol ²	0,5	0,5	2	-
Fluconazol ²	-	-	-	>128 ³

253

254

255

Resultados expressos em média. ⁽³⁾ Sem atividade inibitória sobre o microorganismo na concentração de 128 µg/mL; ⁽¹⁾ Valores em µg de equivalente de ácido clorogênico/mL; ⁽²⁾ valores expressos em (µg/mL); (-) não foi testado.

256

257

258

259

260

261

262

263

Além das atividades inibitórias sobre bactérias bem conhecidas, ressaltamos que ambos os extratos de araçá apresentaram atividade inibitória sobre *Candida albicans* nas concentrações de 39,06 µg EAC/mL para extrato de araçá vermelho e 78,12 µg EAC/mL para o extrato amarelo, concentrações muito menores do que o medicamento de referência para este fungo, o fluconazol, que não apresentou atividade em concentrações maiores a 128 µg/ml. Estes resultados são muito promissores, uma vez que o medicamento fluconazol, o padrão utilizado para o tratamento de *Candida albicans* não apresentou efetividade sobre este microorganismo (Tabela 3).

264 Tabela 4. Atividade antimicrobiana de extratos de araçá utilizando o método de concentração
 265 inibitória mínima (CIM)

Isolados	Araçá amarelo ¹	Araçá vermelho ¹	Cloranfenicol ²	Fluconazol ²
<i>Staphylococcus aureus</i> 1	156,25	156,25	0,5	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 2	156,25	156,25	0,5	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 3	156,25	156,25	0,5	-
<i>Escherichia coli</i> 1	312,5	312,5	0,5	-
<i>Escherichia coli</i> 2	312,5	312,5	0,5	-
<i>Escherichia coli</i> 3	312,5	312,5	0,5	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase (KPC) 1	1250	625	2	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase (KPC) 2	1250	625	2	-
<i>Candida albicans</i> 1	78,12	39,06	-	>128 ³
<i>Candida albicans</i> 2	78,12	39,06	-	>128 ³
<i>Candida albicans</i> 3	78,12	39,06	-	>128 ³
<i>Candida albicans</i> 4	78,12	39,06	-	>128 ³
<i>Candida albicans</i> 5	78,12	39,06	-	>128 ³
<i>Candida albicans</i> 6	78,12	39,06	-	>128 ³

266 Resultados expressos por teste. (³) Sem atividade inibitória sobre o microrganismo na concentração de 128 µg/mL; (¹)
 267 Valores em µg de equivalente de ácido clorogênico/mL; (²) valores expressos em (µg/mL); (-) não foi testado.

268 **Discussão**

269 O araçá é uma planta nativa do Rio Grande do Sul, porém ainda não é um fruto com
 270 consumo pronunciado, pois são desconhecidos por parte da população. Por outro lado, suas folhas
 271 já são muito usadas na medicina tradicional na forma de chás e macerados. Assim, estudos
 272 avaliando a composição e efeitos biológicos desta fruta são muito importantes e promissores a fim
 273 de promover e estimular o consumo e potencial uso farmacológico dos frutos de araçá. Observamos
 274 que embora os frutos de araçá amarelo e vermelho sejam da mesma espécie, eles apresentam
 275 diferenças marcantes nas características físico-químicas e fitoquímicas (Tabelas 1 e 2). em nosso
 276 estudo podemos observa que 100 g de frutas fresca de araçá amarelo apresenta 81,86±0,16% de
 277 Umidade, 0,90±0,01% de minerais, 16,26±0,23% de carboidratos totais, 5,36± 1,51 de fibra
 278 alimentar total, 2,43±1,33% de fibra soluvel, 2,93±0,18% de fibra insoluvél, 0,74±0,02% de

279 proteina bruta, $0,67\pm 0,12\%$ de proteina bruta; já no frutos vermelha apresentaram $20,75\pm 0,09\%$
280 de massa seca, $0,79\pm 0,01\%$, de minerais, $18,56\pm 0,12\%$ de carboidratos totais, $7,80\pm 1,02\%$ de fibra
281 alimentar total, $0,66\pm 0,45\%$ de fibra solúvel, $7,48\pm 1,96\%$ de fibra insolúvel, $0,92\pm 0,04\%$ de
282 proteina bruta, $0,56\pm 0,14\%$ de lipídios. Estes dados demonstram o quanto frutos podem apresentar
283 características diferentes entre eles. Assim como em nosso estudo outros observaram resultados
284 similares assim, como no demonstrado por (E. D. S. Pereira et al., 2018), do qual observou
285 valores dentro da mesma faixa de valores para 100g de araçá *in natura* possuem 81.73-84.9 g de
286 água, 0.75-1.03 g de proteína, 0.63-1.50 g de minerais, 4.32-10.01 g de carboidratos, 0.42-0.55 g de
287 lipídios, 3.87-6.14 g de fibra 26.8 kcal de energia em fruto o que está de acordo com os resultados
288 de composição observados no nosso trabalho. Porém a quantidade de Kcal pode ter alterado devido
289 a safra e local de colheita das frutas, ou pelas questões relacionadas a quantificação já que os
290 resultados apresentados por Pereira demonstram o valor em um fruto que pode variar de 20 a 25
291 gramas e nossos resultados demonstramos em 100g de fruto fresco. Fibra dietética total, fibra
292 insolúvel, carboidratos, açúcar total e teor de açúcares reduzidos relatados por para o genótipo
293 amarelo foi 11,95 g, 11,55 g, 15,08 g, 22,74 g e 18,6 g / 100 g de polpa bruta, respectivamente.
294 Além disso, diferentes compostos de pectina e hemicelulose foram encontrados na porção comestível
295 do fruto do araçá (mesocarpo) (M. C. Pereira et al., 2012).

296 O câncer é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, desta
297 forma (Alberts et al., 2010; INCA, 2018; WHO, 2002, 2018) a fim de avaliar as potencialidades dos
298 extratos de araçá no câncer utilizamos linhagens de câncer de próstata (DU-145), glioma (C6) e
299 adenocarcinoma colorretal (HT-29) e observamos que o extrato de araçá vermelho apresentou
300 redução significativa na viabilidade celular nas células HT-29 e não observamos efeito citotóxico
301 nas demais linhagens testadas (Figura 4). Medina e colaboradores (Medina et al., 2011) também
302 avaliaram o efeito antiproliferativo *in vitro* em linhagens de câncer de mama (MCF-7) e de câncer
303 de cólon (CaCo-2) dos extratos de araçá amarelo e vermelho e observaram que os extratos
304 apresentaram atividade antiproliferativa sobre ambas as células nas concentrações de 40, 60 e 80
305 $\mu\text{g/mL}$.

306 Frutas escuras com coloração vermelho, azuladas variando até o roxo escuro chegando a se
307 tornar preto apresentam essa coloração devido a presença de antocianinas. Estes compostos
308 normalmente presentes em frutos escuros é um antioxidante, já bem documentado (Abo El-Ella &
309 Bishayee, 2019; Svanberg et al., 2019). Antocianinas tem sido descritas como prolongadoras de vida
310 de prateleira de emulsões, visto que elas agem como antioxidantes desta forma impedindo ou
311 retardando a oxidação lipídica, além disso já a descrição como inibidoras de crescimento
312 microbiano de bactérias tanto gram negativas quanto positivas através do método de disco de
313 difusão, porém estas moléculas são sensíveis tanto a luz UV, quanto temperatura e presença de

314 oxigênio, além de serem intáveis em meios básicos.(Svanberg et al., 2019). Dentro da classificação
315 das berries (frutas escuras) o araçá vermelho se enquadra entre stawberry (morango), que tem como
316 compostos antocianicos majoritários a Cianidina-3-glucosídeo, pelargonidina e Pelargonidina-3-
317 rutinoside(Abo El-Ella & Bishayee, 2019), antocianinas são moléculas pouco absorvidas pelo
318 intestino, porem muito metabolizadas pela microbiota intestinal.

319 No estudo de (Dai, Gupte, Gates, & Mumper, 2009) foi observado que extrato de blackberry
320 contendo antocianinas, demonstrou que foi capaz de reduzir a viabilidade celular de células HT-29
321 isso por que a produção de peróxido de hidrogênio no meio de cultura foi aumentada, desta forma
322 aumentando significativamente a citotoxicidade na linha celulares, e desta maneira a Catalase não
323 podendo proteger as células da morte celular induzida pela presença antocianinas principalmente
324 de. Cianidina 3-glucosídeo exercida efeito anticâncer agindo em sinergismo ou de forma aditiva
325 com outros componentes ativos nos extratos.

326 Já (Esselen et al., 2011) em seu estudo demonstrou que o extrato de mirtilo e uvas vermelhas
327 também extratos ricos em antocianinas, foi capaz de diminuir os efeitos dos danos ocasionados no
328 DNA das células HT-29. (Seeram et al., 2006), em outro estudou os efeitos de extratos de black
329 raspberry, strawberry, e blueberry (amora, framboesa preta, mirtilo, framboesa vermelha e morango
330 respectivamente), observarm que os extratos inibiram a proliferação celular além do aumento de
331 apoptose celular e expressão de COX-2 na linhagem HT-29. (Zhao, Giusti, Malik, Moyer, &
332 Magnuson, 2004) também foi observado que extratos de uva comercialmente preparada (*Vitis*
333 *vinifera*), o mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.) e o chokeberry (*Aronia melanocarpa* E.) extratos ricos
334 em antocianina foram capazes de inibir o crescimento de células HT-29. Desta forma podemos
335 concluir que o motivo pelo qual apenas o araçá apresentou atividade anticarcinogenica se da pela
336 presença de antocianinas principalmente cianidina 3-glicosídeo.

337 Embora tenhamos observado citotoxicidade em apenas uma linhagem testada e apenas pelo
338 araçá vermelho, consideramos este resultado muito interessante visto que o câncer de intestino está
339 fortemente associado aos hábitos de alimentação, nutrição e atividade física. A incidência deste tipo
340 de câncer vem aumentando nos últimos anos e, em paralelo, observa-se que a população está cada
341 vez mais exposta aos fatores de risco como dieta rica em carnes vermelhas, alimentos processados e
342 gorduras, além do tabagismo e alcoolismo (Barretos, 2016; INCA, 2019). Outro fator de risco é o
343 reduzido consumo de frutas e verduras pela população, que além dos seus efeitos antioxidantes,
344 estimulam a atividade de enzimas desintoxicantes, atuam através do fornecimento de
345 micronutrientes e estimulam o sistema imunológico, sendo comprovado que frutas apresentam
346 efeitos profiláticos frente a diversas desordens biológicas. Além disso as fibras alimentares,
347 presentes em grande quantidade nos frutos de araçá são capazes de aumentar o volume fecal e,
348 consequentemente, seu trânsito intestinal, o que diminui a absorção de agentes potencialmente

349 carcinogênicos (Poirier et al., 2019). Assim, o Ministério da Saúde (MS) recomenda o consumo
350 mínimo de frutas e verduras de 400g/dia (IBGE, 2019), como uma medida de prevenção para uma
351 vida saudável e surgimento de alguns tipos de cânceres como o câncer colorretal. Desta forma,
352 sugerimos que os frutos de araçá poderiam ser utilizados como uma fonte de fibras e compostos
353 fenólicos exercendo este efeito protetor devido a presença de antocianinas em sua composição.

354 A busca por novos fármacos ou substâncias com potencial antimicrobiano ou antifúngico
355 tem crescido consideravelmente com o passar dos anos, devido ao uso indiscriminado de
356 antimicrobianos, tanto pela medicina preventiva quanto pela agricultura para o controle de pragas,
357 criando assim resistência microbiana (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, & Stahl, 2016).
358 Pensado nisso, os extratos de plantas e óleos essenciais naturais tem sido utilizados com a função de
359 retardar o uso dos antimicrobianos e, assim, buscar novas alternativas que apresentem efeitos
360 semelhantes ou melhores do que os medicamentos de referência e assim diminuído os efeitos
361 colaterais ocasionados (Madigan et al., 2016; Scur et al., 2016; Soliman, Fathy, Salama, & Saber,
362 2016). Desta forma, os frutos do araçá devem ser estudados com uma possível alternativa de
363 combate para certos microrganismos, visto que já existem estudos demonstrando o efeito
364 antimicrobiano de extratos de folhas de araçá demonstrando potencial antimicrobiano (Massunari et
365 al., 2017; Sangalli et al., 2018) e principalmente antifúngico (Castro et al., 2015; Scur et al., 2016;
366 Soliman et al., 2016; Sangalli et al., 2018).

367 Em nosso estudo observamos pela primeira vez que os extratos hidroalcoólico dos frutos de
368 araçá apresentaram atividade antimicrobiana sobre (*Candida albicans*, *Escherichia coli*, KPC e
369 *Staphylococcus aureus*) todos os microrganismos testados, tanto bactérias, quanto fungos, e estes
370 efeitos são muito promissores, visto que os estudos onde demonstram atividade grande parte
371 trabalham com as folhas e acabam utilizando ao invés de extrato hidroalcoólico utilizam óleo
372 essencial (Scur et al., 2016; Soliman et al., 2016). O extrato de ambos os frutos apresentaram
373 atividade antimicrobiana em concentrações relativamente pequenas, visto que no estudo (Scur et al.,
374 2016) onde utilizou extrato aquoso, etanólico e óleo essencial das folhas, para testar a atividade
375 antimicrobiana através do método CIM foi observado que para o microrganismo *S. aureus* o
376 extrato etanólico apresentou valores de 3,125mg/mL, já para o aquoso de 12,5mg/mL e o óleo
377 essencial na concentração de 200mg/mL, já para *E. coli* o extrato etanólico foi de 6,25mg/mL, o
378 aquoso de 12,5mg/mL e o óleo essencial de 200mg/mL, para *K. pneumoniae* o extrato etanólico
379 apresentou valores de 0,78/1,56mg/mL, o extrato aquoso de 6,25/12,5 mg/mL e o óleo essencial de
380 200mg/mL já para o fungo *Candida albicans* o extrato etanólico apresentou valores de 3,125mg/mL,
381 o aquoso de 6,24mg/mL e o óleo essencial de 200mg/mL. (Castro et al., 2015) em seu estudo
382 realizou atividade antifúngica do óleo essencial de folha de araçá onde ele observou que óleo
383 através do método de CIM apresentou valor de $166.70 \pm 72.17 \mu\text{g/mL}$ assim sendo maior dos que os

384 encontrado em nosso estudo. Quando comparadas a moléculas isoladas que já são utilizadas como
385 antimicrobianos conhecidos (Tabela 3) pois se observamos quem em 300 gramas de fruta
386 apresentou $5517,87 \pm 482,98$ amarelo e $5209,61 \pm 302,09$ vermelho $\mu\text{g Eq. Ac. clorogenico/mL}$
387 assim a quantidade necessária de fruta a ser utilizada para conter o efeito inibitorio sobre os
388 organismos com o araçá amarelo variaria de 67,96 a 4,24 gramas e para o araçá vermelho 35,99 a
389 2,25gramas. Das bactérias testadas neste estudo, todas eram bactérias patogênicas que normalmente
390 estão presentes em nosso meio ambiente, e são causadora de inúmeras doenças comuns.

391 A *Escherichia coli* (*E. coli*) foi uma das bactérias testadas, podem causar graves doenças
392 transmitidas por alimentos, como é o caso da *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) Este tipo de *E. coli*
393 produz duas toxinas, chamadas “verotoxina” ou do tipo “Shiga”, podendo ser denominada *E. coli*
394 produtora de verotoxina (VTEC) ou *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) (ANS, 2011; N. U.
395 B. OMS, 2017; O. m. d. S. OMS, 2019a, 2019b). Relatos demostram que as principais formas de
396 contaminação são através do consumo de alimentos contaminados (OMS, O. M. D. S., 2019a).
397 gerando sintomas como: cólicas e diarreia, que pode ser sanguinolenta, febre e vomito, (OMS, O.
398 M. D. S., 2019a), no entanto, em pessoas mais vulneráveis, como idosos e crianças, a infecção pode
399 agravar-se, levando à Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU) – caracterizada por falência renal
400 aguda, anemia hemolítica (decorrente da destruição anormal das hemácias) e trombocitopenia
401 (redução no número de plaquetas, responsáveis pela coagulação do sangue) (ANS, 2011).

402 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) foi outro microrganismo testado que observamos
403 atividade antimicrobiana dos extratos de araçá. (Rao, Shang, Hu, & Rao, 2015; WHO, 2014)O *S.*
404 *aureus* é considerado um patógeno humano oportunista e frequentemente está associado a infecções
405 adquiridas em comunidades isoladas e nos ambientes hospitalares (Rao et al., 2015). Algumas
406 infecções por este microrganismo são agudas e podem se disseminar para diferentes tecidos e
407 provocar focos metastáticos, e em alguns casos mais graves, como bacteremia, pneumonia,
408 osteomielite, endocardite, miocardite, pericardite e meningite (ANVISA, 2019).

409 O resultado que consideramos mais promissor foi o efeito antimicrobiano observado para
410 ambos os extratos de araçá sobre a bactéria *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), visto que
411 espécies do gênero *Klebsiella* são particularmente comuns em hospitais entre indivíduos
412 vulneráveis, como pré-termo e pacientes com deficiência imunológica, diabetes ou transtornos por
413 uso de álcool e recebem cuidados médicos avançados (Teng et al., 2019; WHO, 2014). A KPC é
414 uma bactéria super-resistente que adquiriu resistência a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos,
415 como cefalosporinas e, para essas cepas aos antimicrobianos carbapenêmicos (Teng et al., 2019;
416 WHO, 2014) que seriam a principal opção de tratamento, não apresentam atividade devido a esta
417 cepa ser produtora de carbapenemase, uma enzima que degrada estes antimicrobianos evitando sua
418 ação.(WHO, 2014)

419 Desta forma a KPC torna-se um ameaça crescente em ambientes hospitalares (Teng et al.,
420 2019) e várias pesquisas visam a descoberta ou desenvolvimento de novas moléculas ou compostos
421 com ação antimicrobiana sobre estas cepas resistentes (Frattari et al., 2019). Assim, os extratos de
422 araquá amarelo e vermelho apresentam resultados promissores uma vez que apresentaram efeito
423 inibitório sobre a KPC. Ressaltamos ainda que o extrato de araquá vermelho foi ainda mais efetivo
424 pois atuou em uma concentração menor ainda, resultado este que deve ser mais explorado (Tabela
425 3).

426 O fungo *Candida albicans* é um microrganismo comum que pode ser frequentemente
427 encontrado no trato gastrointestinal, trato urogenital, além de boca, pele e sistema respiratório de
428 adultos saudáveis (Xu et al., 2019). Nos últimos 50 anos houve um aumento significativo da
429 incidência de infecções fúngicas, o que acaba sendo alvo de prioridade na saúde a nível global
430 (Castillo, Azcurra, & Sotomayor, 2019). Este fungo oportunista muito comum em humanos está
431 associado a várias patologias dentre elas a doenças principalmente os órgãos sexuais, como a
432 candidíase (Guo, Yue, Wei, & Huang, 2017). O tratamento padrão de candidíase baseia-se em
433 quatro classes de antifúngicos: os azóis (fluconazol), polienos, fluopirimidinas e as
434 equinocandinas. Porém, existem relatos de resistência destes antifúngicos para o combate de
435 candidíase, principalmente ao fluconazol, que é o medicamento de referência (El-Houssaini,
436 Elnabawy, Nasser, & Elkhatib, 2019).

437 Infecções fúngicas invasivas (IFI) são um problema crescente no mundo todo, a candidíase
438 invasiva e candidemia são mais maiores responsáveis, isso ocasiona devido a uso generalizado de
439 terapias imunossupressoras agressivas entre certas populações de pacientes.(como paciente
440 transplantados, em uso de quimioterapia ou HIV-positivo com carga viral alta). Além do mais o uso
441 de equipamentos invasivos em unidades de terapia intensivas (UTI) como cateteres venosos
442 centrais(CVCs), intubação braquial além do uso de fármacos que modificam o sistema imune.

443 Assim as Infecções fúngicas torna-se um problema crescente, como no caso de
444 transplantados, visto que se os doadores com algum tipo de infecção fúngica pode originar
445 complicações sérias para os receptores, gerando assim complicações drásticas no pós-operatório e
446 desta forma ocasionando até o óbito dos mesmos. mas a principal causa de contaminação relatada
447 pela literatura se dá pela contaminação dos fluidos de preservação do órgão principalmente *Candida*
448 sp. Outro problema grave encontrado é o número cada vez maior de *Candidas* resistentes a fármacos
449 como fluconazol assim dificultando o tratamento e desta forma ainda mais complicando o caso de
450 do paciente já debilitado.

451 Em nosso trabalho observamos que os extratos de araquá amarelo e vermelho apresentaram
452 efeito muito importante sobre uma cepa de *Candida albicans* resistente, sendo que foram capazes
453 de inibir o crescimento deste microrganismo em concentrações bem reduzidas (Tabela 3). Além

454 disso, observamos que o medicamento de referência para cândida, fluconazol, não apresentou
455 efetividade nesta cepa na maior concentração testada de 128 µg/mL e que os extratos de araçá
456 apresentaram inibição em concentrações até duas vezes menores (araçá amarelo com 78,12 µg
457 EAC/mL e araçá vermelho com 39,06 µg EAC/mL). Assim, sugerimos que os extratos de araçá,
458 especialmente no que diz respeito ao araçá vermelho poderiam ser mais estudados pelos seus efeitos
459 antifúngicos, principalmente em cepas de *Candida albicans* visando o desenvolvimento de novos
460 fármacos.

461 Acreditamos que estes efeitos antimicrobianos observados para os extratos de araçá amarelo
462 e vermelho podem ser devido as características físico-químicas e de polifenóis dos frutos, visto que
463 os flavonoides e antocianinas presentes nestas frutas são compostos reconhecidos como agentes
464 antimicrobianos (Medina et al., 2011; E. D. S. Pereira et al., 2018). Além disso, o fato de o extrato
465 de araçá vermelho ser mais efetivo pode ser devido a presença maior de antocianinas, como
466 observado neste trabalho e corroborado pelo estudo realizado por Medina e colaboradores (Medina
467 et al., 2011), o qual observaram que o extrato de araçá vermelho apresentou maior atividade
468 antimicrobiana devido a presença antocianinas, majoritariamente de cianidina-3-glicosídeo nas
469 polpa da fruta fresca. Desta forma a partir dos resultados apresentados, esperamos desenvolver uma
470 forma farmacêutica para aplicação de forma tópica, para o combate a candidíase ocasionada por
471 *C.albicans*

472 **Conclusão**

473 O araçá amarelo e vermelho são frutas muito comuns e ricas em nutrientes, principalmente
474 em fibras alimentares totais. Os frutos apresentam diferenças de compostos fitoquímicos e
475 observamos que o araçá vermelho apresenta maior quantidade de antocianinas e o araçá amarelo
476 tem maior quantidade de derivados do ácido caféico. Além disso, podemos observar que o extrato
477 de araçá vermelho apresentou efeito citotóxico para câncer colorretal, o que é um resultado muito
478 promissor visto que esta neoplasia é uma das mais comuns entre homens e mulheres. Ainda,
479 observamos que os extrato de araçá apresentaram efeito antimicrobiano sobre todos os
480 microrganismos testados, mas destacamos o efeito observado no combate ao fungo *Candida*
481 *albicans*, principalmente para o extrato de araçá vermelho. Assim, concluimos que os extratos dos
482 frutos de araçá tem efeitos biológicos promissores e pretendemos avaliar mais a fundo a
483 potencialidade farmacológica dos extratos como antifúngicos. Através do aumento do numero de
484 isolados fungicos, principalmente do genero *Candida* sp.

485 **Referências bibliográficas**

- 486 Abo El-Ella, D. M., & Bishayee, A. (2019). Chapter 6 - The Epigenetic Targets of Berry
487 Anthocyanins in Cancer Prevention. In A. Bishayee & D. Bhatia (Eds.), *Epigenetics of*
488 *Cancer Prevention* (Vol. 8, pp. 129-148): Academic Press.
- 489 Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., . . . Hunt, T. (2010). *Biologia*
490 *molecular da célula*: Artmed Editora.
- 491 Alvarenga, F. Q., Mota, B. C., Leite, M. N., Fonseca, J. M., Oliveira, D. A., Royo Vde, A., . . .
492 Laurentiz, R. S. (2013). In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of
493 the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. *J*
494 *Ethnopharmacol*, 150(1), 280-284. doi:10.1016/j.jep.2013.08.044
- 495 ANS, A. N. D. S. S. (2011). Qualidade da Saúde. Retrieved from [https://www.ans.gov.br/a-](https://www.ans.gov.br/a-ans/sala-de-noticias-ans/qualidade-da-saude/625-ministerio-da-saude-faz-alerta-sobre-surto-de-infeccao-por-bacteria)
496 [ans/sala-de-noticias-ans/qualidade-da-saude/625-ministerio-da-saude-faz-alerta-sobre-surto-](https://www.ans.gov.br/a-ans/sala-de-noticias-ans/qualidade-da-saude/625-ministerio-da-saude-faz-alerta-sobre-surto-de-infeccao-por-bacteria)
497 [de-infeccao-por-bacteria](https://www.ans.gov.br/a-ans/sala-de-noticias-ans/qualidade-da-saude/625-ministerio-da-saude-faz-alerta-sobre-surto-de-infeccao-por-bacteria)
- 498 ANVISA, A. N. d. V. S. (2019). Antimicrobianos - Base Teóricas e Uso Clínico. Retrieved from
499 [http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/mod](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_staphylo.htm)
500 [ulo3/gramp_staphylo.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_staphylo.htm)
- 501 Barretos, H. d. C. d. (2016). Câncer Colorretal (Cólon, Reto e Intestino Grosso). Retrieved from
502 <https://www.hcancerbarretos.com.br/cancer-colorretal>
- 503 Biegelmeier, R., Andrade, J. M., Aboy, A. L., Apel, M. A., Dresch, R. R., Marin, R., . . .
504 Henriques, A. T. (2011). Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant
505 activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*)
506 strawberry guava fruit. *J Food Sci*, 76(7), C991-996. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02319.x
- 507 Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification.
508 *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.
- 509 **Brasil, M. d. S. S. d. A. à. S. D. d. A. B.** (2015). *Alimentos regionais brasileiros* (M. d. Saúde Ed.
510 2 ed.).
- 511 Brighenti, F. L., Gaetti-Jardim, E., Jr., Danelon, M., Evangelista, G. V., & Delbem, A. C. (2011).
512 Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on enamel demineralisation and dental biofilm
513 composition in situ. *Arch Oral Biol*, 57(8), 1034-1040.
514 doi:10.1016/j.archoralbio.2012.02.009
- 515 Castillo, G. D. V., Azcurra, A. I., & Sotomayor, C. E. (2019). Lipasas de especies Candida: una
516 revisión sobre aspectos bioquímicos, moleculares y patogénicos. *Rev Fac Cien Med Univ*
517 *Nac Cordoba*, 76(2), 107-112. doi:10.31053/1853.0605.v76.n2.23822
- 518 Castro, M. R., Victoria, F. N., Oliveira, D. H., Jacob, R. G., Savegnago, L., & Alves, D. (2015).
519 Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: antioxidant and antifungal activity. *Pharm Biol*,
520 53(2), 242-250. doi:10.3109/13880209.2014.914231
- 521 Chemists, A. o. O. A., & Chemists, A. o. O. A. (1920). *Official methods of analysis*.
- 522 Daboit, T. C., Stopiglia, C. D., Carissimi, M., Corbellini, V. A., Stefani, V., & Scroferneker, M. L.
523 (2009). In vitro antifungal activity of 2-(2'-hydroxy-5'-aminophenyl)benzoxazole in *Candida*
524 spp. strains. *Mycoses*, 52(6), 507-510. doi:10.1111/j.1439-0507.2008.01638.x
- 525 Dai, J., Gupte, A., Gates, L., & Mumper, R. J. (2009). A comprehensive study of anthocyanin-
526 containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability,
527 anticancer properties and mechanisms. *Food Chem Toxicol*, 47(4), 837-847.
528 doi:10.1016/j.fct.2009.01.016
- 529 Denardin, C. C., Hirsch, G. E., da Rocha, R. F., Vizzotto, M., Henriques, A. T., Moreira, J. C. F., . . .
530 . Emanuelli, T. (2015). Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian
531 native fruits. *J Food Drug Anal*, 23(3), 387-398. doi:10.1016/j.jfda.2015.01.006
- 532 Denardin, C. C., Parisi, M. M., Martins, L. A., Terra, S. R., Borojevic, R., Vizzotto, M., . . . Guma,
533 F. T. (2014). Antiproliferative and cytotoxic effects of purple pitanga (*Eugenia uniflora* L.)
534 extract on activated hepatic stellate cells. *Cell Biochem Funct*, 32(1), 16-23.
535 doi:10.1002/cbf.2965

- 536 El-Houssaini, H. H., Elnabawy, O. M., Nasser, H. A., & Elkhatib, W. F. (2019). Correlation
537 between antifungal resistance and virulence factors in *Candida albicans* recovered from
538 vaginal specimens. *Microb Pathog*, *128*, 13-19. doi:10.1016/j.micpath.2018.12.028
- 539 Esselen, M., Fritz, J., Hutter, M., Teller, N., Baechler, S., Boettler, U., . . . Marko, D. (2011).
540 Anthocyanin-rich extracts suppress the DNA-damaging effects of topoisomerase poisons in
541 human colon cancer cells. *Mol Nutr Food Res*, *55 Suppl 1*, S143-153.
542 doi:10.1002/mnfr.201000315
- 543 Fetter, M. R. V. M., C. Diandra D. Gonzales, T N. (2010). Propriedades funcionais de araçá-
544 amarelo, araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* DC)
545 cultivados em Pelotas/RS. *Embrapa Clima Temperado-Artigo em periódico indexado*
546 (*ALICE*).
- 547 Franzon, R. C. C., L Z O. Proença, C E B. Sousa-Silva, J C. . (2009). Araçás do gênero *psidium*:
548 principais espécies, ocorrência, descrição e usos. *Embrapa Cerrados-Documentos*
549 (*INFOTECA-E*).
- 550 Frattari, A., Savini, V., Polilli, E., Di Marco, G., Lucisano, G., Corridoni, S., . . . Parruti, G. (2019).
551 Control of Gram-negative multi-drug resistant microorganisms in an Italian ICU: Rapid
552 decline as a result of a multifaceted intervention, including conservative use of antibiotics.
553 *Int J Infect Dis*, *84*, 153-162. doi:10.1016/j.ijid.2019.04.002
- 554 Guo, D., Yue, H., Wei, Y., & Huang, G. (2017). [Genetic regulatory mechanisms of *Candida*
555 *albicans* biofilm formation]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, *33*(9), 1567-1581.
556 doi:10.13345/j.cjb.170122
- 557 IBGE, I. B. d. G. e. E. (2019). POF 2008-2009: mais de 90% da população comem poucas frutas,
558 legumes e verduras. Retrieved from [https://censo2010.ibge.gov.br/noticias-
559 censo.html?busca=1&id=1&idnoticia=1937&t=pof-20082009-mais-90-populacao-comem-
560 poucas-frutas-legumes-verduras&view=noticia](https://censo2010.ibge.gov.br/noticias-censo.html?busca=1&id=1&idnoticia=1937&t=pof-20082009-mais-90-populacao-comem-poucas-frutas-legumes-verduras&view=noticia)
- 561 INCA, I. N. d. C. (2018). Causas e Prevenção: Estatísticas de câncer. Retrieved from
562 <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>
- 563 INCA, I. n. d. c. (2019). Câncer de intestino - versão para Profissionais de Saúde. Retrieved from
564 <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-intestino/profissional-de-saude>
- 565 Lutz-OAL, O. A. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. In: São Paulo I: OAL.
- 566 Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2016).
567 *Microbiologia de Brock-14ª Edição*: Artmed Editora.
- 568 Medina, A. L., Haas, L. I. R., Chaves, F. C., Salvador, M., Zambiasi, R. C., da Silva, W. P., . . .
569 Rombaldi, C. V. (2011). Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant
570 and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food*
571 *Chemistry*, *128*(4), 916-922. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>
- 572 OMS, N. U. B. (2017). OMS: câncer mata 8,8 milhões de pessoas anualmente no mundo. Retrieved
573 from [https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-
574 mundo/](https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/)
- 575 OMS, O. m. d. S. (2019a). *E. coli*. Retrieved from [https://www.who.int/es/news-room/fact-
576 sheets/detail/e-coli](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli)
- 577 OMS, O. m. d. s. (2019b). *Escherichia coli*. Retrieved from
578 https://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/es/
- 579 Pereira, E. D. S., Vinholes, J., R, C. F., Dalmazo, G., Vizzotto, M., & Nora, L. (2018). *Psidium*
580 *cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. *Food Chem*, *258*, 95-103.
581 doi:10.1016/j.foodchem.2018.03.024
- 582 Pereira, M. C., Steffens, R. S., Jablonski, A., Hertz, P. F., Rios Ade, O., Vizzotto, M., & Flores, S.
583 H. (2012). Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae
584 family. *J Agric Food Chem*, *60*(12), 3061-3067. doi:10.1021/jf205263f
- 585 Prism, G. (2008). GraphPad Prism. version 7. *La Jolla, CA: GraphPad Software*.

586 Rao, Q., Shang, W., Hu, X., & Rao, X. (2015). Staphylococcus aureus ST121: a globally
587 disseminated hypervirulent clone. *J Med Microbiol*, 64(12), 1462-1473.
588 doi:10.1099/jmm.0.000185

589 Ribeiro, A. B., Chiste, R. C., Freitas, M., da Silva, A. F., Visentainer, J. V., & Fernandes, E. (2014).
590 Psidium cattleianum fruit extracts are efficient in vitro scavengers of physiologically
591 relevant reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chem*, 165, 140-148.
592 doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.079

593 Rocha, L. D., Preussler, Karla Heloise Pegorini, Fernanda de Farias, Vanessa Maranhão, Leila
594 Teresinha. (2008). Estudo anatômico comparativo da casca do caule do araçá-amarelo e
595 araçá-vermelho, Psidium cattleianum Sabine, Myrtaceae. *Acta Bot Bras*, 22(4), 1114-1122.

596 Scur, M. C., Pinto, F. G., Pandini, J. A., Costa, W. F., Leite, C. W., & Temponi, L. G. (2016).
597 Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of Psidium
598 cattleianum Sabine. *Braz J Biol*, 76(1), 101-108. doi:10.1590/1519-6984.13714

599 Seeram, N. P., Adams, L. S., Zhang, Y., Lee, R., Sand, D., Scheuller, H. S., & Heber, D. (2006).
600 Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts
601 inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *J Agric Food Chem*,
602 54(25), 9329-9339. doi:10.1021/jf061750g

603 Soliman, F. M., Fathy, M. M., Salama, M. M., & Saber, F. R. (2016). Comparative study of the
604 volatile oil content and antimicrobial activity of Psidium guajava L. and Psidium
605 cattleianum Sabine leaves. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 54(2), 219-
606 225. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2016.06.003>

607 Sucupira, N. R., da Silva, A. B., Pereira, G., & da Costa, J. N. (2015). Métodos para determinação
608 da atividade antioxidante de frutos. *Journal of Health Sciences*, 14(4).

609 Svanberg, L., Malmberg, K., Gustinelli, G., Ohgren, C., Persson, I., Brive, L., & Wassen, S. (2019).
610 Effect of anthocyanins on lipid oxidation and microbial spoilage in value-added emulsions
611 with bilberry seed oil, anthocyanins and cold set whey protein hydrogels. *Food Chem*, 272,
612 273-278. doi:10.1016/j.foodchem.2018.06.064

613 Swain, T., & HILLIS, W. (1959). The fenolic constituents of Prunus domestica. The quantitative
614 analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture, London*,
615 10(1), 63-68.

616 Teng, T., Li, Q., Liu, Z., Li, X., Liu, Z., Liu, H., . . . Ji, A. (2019). Characterization and genome
617 analysis of novel Klebsiella phage Henu1 with lytic activity against clinical strains of
618 Klebsiella pneumoniae. *Arch Virol*. doi:10.1007/s00705-019-04321-x

619 WHO, W. H. O. (2002). GLOBACAN 2002 Database, International Agency for Research on
620 Cancer. *World Health Organization*.

621 WHO, W. H. O. (2014). *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*: World Health
622 Organization.

623 WHO, W. H. O. (2018). The top 10 causes of death. Retrieved from [https://www.who.int/news-](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death)
624 [room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death)

625 Xu, Z. L., Li, S. R., Fu, L., Zheng, L., Ye, J., & Li, J. B. (2019). Candida albicans-induced acute
626 lung injury through activating several inflammatory signaling pathways in mice. *Int*
627 *Immunopharmacol*, 72, 275-283. doi:10.1016/j.intimp.2019.04.026

628 Zhao, C., Giusti, M. M., Malik, M., Moyer, M. P., & Magnuson, B. A. (2004). Effects of
629 commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell
630 growth. *J Agric Food Chem*, 52(20), 6122-6128. doi:10.1021/jf049517a
631

PARTE III

Considerações finais

O objetivo geral do nosso trabalho foi avaliar o efeito antimicrobiano dos extratos etanólicos de araçá vermelho e amarelo e avaliar a atividade antiproliferativa do extrato frente a celular cancerígenas e demonstrar as características físico-químicas dos frutos.

Foi possível observar através deste estudo que o extrato de araçá tanto amarelo quanto o vermelho apresentaram atividade antimicrobiana tanto antibactericida através da atividade inibitória sobre as bactérias *S. aureus*, *E. coli* e KPC quanto atividade antifúngica através da inibição do micro-organismo *C. albicans*.

Esses resultados são muito interessantes visto que a área microbiológica clínica cresce a busca por novas terapias e moléculas de combate, devido ao aumento do número de casos em que fármacos padrões de tratamentos não apresentam mais a mesma eficiência devido a modificações dos microrganismos causadas tanto pelo uso exacerbado de antibióticos como profilaxias para doenças ou da facilidade de compra de antibióticos e ou quanto pela agricultura pelo uso indiscriminado de antifúngicos para o combate de pragas da lavoura, assim gerando resistência fúngica assim formando micro-organismos resistentes.

Através dos resultados demonstrado no teste de CIM podemos identificar que o araçá apresenta um potencial frente a o controle microbiano principalmente a o combate de fungos e que o extrato do araçá vermelho foi o extrato que apresentou uma melhor atividade, visto que este apresenta uma maior quantidade de antocianinas em sua composição comparada com o araçás amarelo, porém ambos os extratos apresentaram resultados promissores para o combate tanto de fungos quanto bactérias.

As atividades antiproliferativa podem observar que o extrato hidroalcoólico de araçá vermelho apresentou atividade antiproliferativa na concentração de 50µg/de EAC/mL na células HT-29 que é uma célula de câncer de colorretal, este resultado é um resultado promissor visto que além desses resultado na análise físico-química podemos observar que o araçá vermelho foi o fruto que mais apresentou fibra. Este dois resultados são resultados que se unem, pois podemos observar que o araçá vermelho teria dois efeito tanto preventivo devido a sua maior quantidade de fibra assim fazendo com que o transito intestina torna-se mais rápido e

consequentemente diminuindo sua absorção de substâncias tóxicas, e como tratamento pois seu extrato foi capaz de diminuir a proliferação celular de células de câncer de colo retal.

Observamos nas características fitoquímicas podemos observar que ambos os frutos apresentam perfil muito diferente entre si e que sua composição é muito diversificada de compostos, assim sugerido que mais áreas devem ser testadas o uso deste visto que há poucos estudos sobre o uso das frutas do araçazeiro.

Nos observamos que o araçá apresenta a partir desses resultados uma demonstração que é um fruto de pode ser dado mais ênfase tanto ao seu consumo in natura, ou de outra forma como suco, sorvetes ou geleias e que através destes resultados demonstrando que os frutos apresentam muitos benefícios.

Perspectivas

Esperamos com este trabalho explorar de forma mais ampla a efetividade dos extratos etanólicos de araçá em especial do araçá vermelho em outros isolados de fungos tanto de espécie do gênero *Candida* quanto de outros a fins de ver sua efetividade.

Esperamos poder realizar a partir de nossos resultados, o desenvolvimento de uma forma farmacêutica para aplicação de forma tópica, para o combate a Candidíase ocasionada por *Candida albicans*

Desejamos por fim testar a formulação com extrato *in vivo* a fim de obter mais resultados demonstrado seu efeito e benefício do uso.

Além desses resultados temos por fim realizar o isolamento dos composto presente no extrato e assim como o extrato bruto temos como finalidade testar suas frações e seus compostos isolados a fim de observar se age de uma melhor ou igual forma ou observar que o extrato age de maneira sinérgica os compostos para seu efeito antimicrobiano.

REFERÊNCIAS

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. Artmed Editora, 2010. ISBN 8582714238.

ALVARENGA, F. Q. et al. In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **J Ethnopharmacol**, v. 150, n. 1, p. 280-4, Oct 28 2013. ISSN 1872-7573 (Electronic) 0378-8741 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24021301> >.

ANS, A. N. D. S. S. Qualidade da Saúde. 2011. Disponível em: < <https://www.ans.gov.br/ans/sala-de-noticias-ans/qualidade-da-saude/625-ministerio-da-saude-faz-alerta-sobre-surto-de-infeccao-por-bacteria> >. Acesso em: 05/06/2019.

ANVISA, A. N. D. V. S. Antimicrobianos - Base Teóricas e Uso Clínico. 2019. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/gramp_staphylo.htm >. Acesso em: 07/06/2019.

BARRETOS, H. D. C. D. Câncer Colorretal (Cólono, Reto e Intestino Grosso). 2016. Disponível em: < <https://www.hcancerbarretos.com.br/cancer-colorretal> >. Acesso em: 03/06/2019.

BIEGELMEYER, R. et al. Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) strawberry guava fruit. **J Food Sci**, v. 76, n. 7, p. C991-6, Sep 2011. ISSN 1750-3841 (Electronic) 0022-1147 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22417549> >.

BLOSTEIN, F. et al. Recurrent vulvovaginal candidiasis. **Ann Epidemiol**, v. 27, n. 9, p. 575-582 e3, Sep 2017. ISSN 1873-2585 (Electronic) 1047-2797 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28927765> >.

BRASIL, M. D. S. S. D. A. À. S. D. D. A. B. Normas e Manuais Técnicos Cadernos de Atenção Primária, n. 29. 2010.

BRIGHENTI, F. L. et al. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on enamel demineralisation and dental biofilm composition in situ. **Arch Oral Biol**, v. 57, n. 8, p. 1034-40, Aug 2011. ISSN 1879-1506 (Electronic) 0003-9969 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22386130> >.

CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. **A célula**. Manole, 2013. ISBN 8520434541.

CASTILLO, G. D. V.; AZCURRA, A. I.; SOTOMAYOR, C. E. Lipasas de especies Candida: una revisión sobre aspectos bioquímicos, moleculares y patogénicos. **Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba**, v. 76, n. 2, p. 107-112, Jun 19 2019. ISSN 1853-0605 (Electronic)

0014-6722 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31216165> >.

CASTRO, M. R. et al. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: antioxidant and antifungal activity. **Pharm Biol**, v. 53, n. 2, p. 242-50, Feb 2015. ISSN 1744-5116 (Electronic) 1388-0209 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25420516> >.

CENTERS FOR DISEASE, C.; CDC, P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin or soft tissue infections in a state prison--Mississippi, 2000. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 50, n. 42, p. 919-22, Oct 26 2001. ISSN 0149-2195 (Print) 0149-2195 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11699844> >.

_____. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin--United States, 2002. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 51, n. 26, p. 565-7, Jul 5 2002. ISSN 0149-2195 (Print) 0149-2195 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12139181> >.

CHEN, R. et al. Glioma Subclassifications and Their Clinical Significance. **Neurotherapeutics**, v. 14, n. 2, p. 284-297, Apr 2017. ISSN 1878-7479 (Electronic) 1878-7479 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28281173> >.

CORDEIRO, F. Diretrizes para diagnóstico, estadiamento e tratamento cirúrgico e multidisciplinar do câncer colorretal. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 1, p. 10-11, 2004. ISSN 0104-4230.

DENARDIN, C. C. et al. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. **J Food Drug Anal**, v. 23, n. 3, p. 387-398, Sep 2015. ISSN 1021-9498 (Print). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28911695> >.

DOS SANTOS, F. P. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE PORTARIA Nº 958, DE 26 DE SETEMBRO DE 2014. 2014.

EGEA, M. B. et al. Comparative analysis of aroma compounds and sensorial features of strawberry and lemon guavas (*Psidium cattleianum* Sabine). **Food Chem**, v. 164, p. 272-7, Dec 1 2014. ISSN 1873-7072 (Electronic) 0308-8146 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24996334> >.

EL-HOUSSAINI, H. H. et al. Correlation between antifungal resistance and virulence factors in *Candida albicans* recovered from vaginal specimens. **Microb Pathog**, v. 128, p. 13-19, Mar 2019. ISSN 1096-1208 (Electronic) 0882-4010 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30562603> >.

FANG CHIA, B. Rastreamento para câncer colorretal. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 48, n. 4, p. 286-286, 2002. ISSN 0104-4230.

FERNÁNDEZ-POMARES, C. et al. Hydroalcoholic extract of the widely used Mexican plant *Justicia spicigera* Schltdl. exerts a cytostatic effect on LNCaP prostate cancer cells. **Journal of Herbal Medicine**, v. 12, p. 66-72, 2018. ISSN 2210-8033.

FRATTARI, A. et al. Control of Gram-negative multi-drug resistant microorganisms in an Italian ICU: Rapid decline as a result of a multifaceted intervention, including conservative use of antibiotics. **Int J Infect Dis**, v. 84, p. 153-162, Jul 2019. ISSN 1878-3511 (Electronic) 1201-9712 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31204003> >.

GRIFFITHS, A. J. et al. Introdução à genética. In: (Ed.). **Introdução à genética**, 2006.

GUO, D. et al. [Genetic regulatory mechanisms of *Candida albicans* biofilm formation]. **Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao**, v. 33, n. 9, p. 1567-1581, Sep 25 2017. ISSN 1000-3061 (Print) 1000-3061 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28956402> >.

HO, R. et al. Antioxidant potential and radical-scavenging effects of flavonoids from the leaves of *Psidium cattleianum* grown in French Polynesia. **Nat Prod Res**, v. 26, n. 3, p. 274-7, 2012. ISSN 1478-6427 (Electronic) 1478-6419 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22077157> >.

HUANG, L. et al. Epidemiology and risk factors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci infections in Zhejiang China from 2015 to 2017. **Antimicrob Resist Infect Control**, v. 8, p. 90, 2019. ISSN 2047-2994 (Electronic) 2047-2994 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31164979> >.

IBGE, I. B. D. G. E. E. POF 2008-2009: mais de 90% da população comem poucas frutas, legumes e verduras. 2019. Disponível em: < <https://censo2010.ibge.gov.br/noticias-censo.html?busca=1&id=1&idnoticia=1937&t=pof-20082009-mais-90-populacao-comem-poucas-frutas-legumes-verduras&view=noticia> >. Acesso em: 23/05/2019.

IM, I. et al. The butanol fraction of guava (*Psidium cattleianum* Sabine) leaf extract suppresses MMP-2 and MMP-9 expression and activity through the suppression of the ERK1/2 MAPK signaling pathway. **Nutr Cancer**, v. 64, n. 2, p. 255-66, 2012. ISSN 1532-7914 (Electronic) 0163-5581 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22211962> >.

INCA, I. N. D. C. **Programa Nacional de Controle do Câncer da Próstata: documento de consenso**: INCA Rio de Janeiro 2002.

_____. **Câncer de próstata: vamos falar sobre isso?** Rio de Janeiro: 2017. Disponível em: < http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/cartilha_cancer_prostata_2017_final_WEB.pdf >.

_____. Causas e Prevenção: Estatísticas de câncer. 2018. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer> >. Acesso em: 24/04/2019.

_____. Câncer de intestino - versão para Profissionais de Saúde. 2019a. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-intestino/profissional-de-saude> >. Acesso em: 03/06/2019.

_____. Câncer de próstata. 2019b. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-prostata> >. Acesso em: 02/06/2019.

_____. Câncer do sistema nervoso central. 2019c. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-do-sistema-nervoso-central> >. Acesso em: 19/06/2019.

KUMAR, R.; SHUKLA, P. K. Amphotericin B resistance leads to enhanced proteinase and phospholipase activity and reduced germ tube formation in *Candida albicans*. **Fungal Biol**, v. 114, n. 2-3, p. 189-97, Feb-Mar 2010. ISSN 1878-6146 (Print). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20943129> >.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock-14ª Edição**. Artmed Editora, 2016. ISBN 8582712987.

MASSUNARI, L. et al. Antimicrobial Activity and Biocompatibility of the *Psidium cattleianum* Extracts for Endodontic Purposes. **Braz Dent J**, v. 28, n. 3, p. 372-379, May-Jun 2017. ISSN 1806-4760 (Electronic) 0103-6440 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29297559> >.

MEDINA, A. L. et al. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011/10/15/ 2011. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461100536X> >.

MODREK, A. S.; BAYIN, N. S.; PLACANTONAKIS, D. G. Brain stem cells as the cell of origin in glioma. **World J Stem Cells**, v. 6, n. 1, p. 43-52, Jan 26 2014. ISSN 1948-0210 (Print) 1948-0210 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24567787> >.

MS, M. D. S. **PORTARIA Nº 599, DE 26 DE JUNHO DE 2012**. SAÚDE, S. D. A. À. 2012.

_____. Rio de Janeiro ganha novo Centro de Diagnóstico do Câncer de Próstata. 2017. Disponível em: < <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/41997-rio-de-janeiro-ganha-novo-centro-de-diagnostico-do-cancer-de-prostata> >. Acesso em: 26/04/2019.

MURRAY, R. K.; BENDER, D. A.; BOTHAM, K. M. **Harper: bioquímica ilustrada**. McGraw-Hill, 2010. ISBN 6071503043.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. Macmillan, 2008. ISBN 071677108X.

OMS, N. U. B. OMS: câncer mata 8,8 milhões de pessoas anualmente no mundo. 2017. Disponível em: < <https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/> >. Acesso em: 24/04/2019.

OMS, O. M. D. S. E. coli. 2019a. Disponível em: < <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> >. Acesso em: 05/06/2019.

_____. *Escherichia coli*. 2019b. Disponível em: < https://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/es/ >. Acesso em: 05/06/2019.

PECHEY, R. et al. Why don't poor men eat fruit? Socioeconomic differences in motivations for fruit consumption. **Appetite**, v. 84, p. 271-279, 2015/01/01/ 2015. ISSN 0195-6663. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195666314005029> >.

PEREIRA, E. D. S. et al. Psidium cattleianum fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chem**, v. 258, p. 95-103, Aug 30 2018. ISSN 1873-7072 (Electronic) 0308-8146 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29655760> >.

PEREIRA, M. C. et al. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. **J Agric Food Chem**, v. 60, n. 12, p. 3061-7, Mar 28 2012. ISSN 1520-5118 (Electronic) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22397467> >.

PINO, J. A.; MARBOT, R.; VAZQUEZ, C. Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit. **J Agric Food Chem**, v. 49, n. 12, p. 5883-7, Dec 2001. ISSN 0021-8561 (Print) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11743779> >.

POIRIER, A. E. et al. Estimates of the current and future burden of cancer attributable to low fruit and vegetable consumption in Canada. **Preventive Medicine**, v. 122, p. 20-30, 2019/05/01/ 2019. ISSN 0091-7435. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091743519300891> >.

RAO, Q. et al. Staphylococcus aureus ST121: a globally disseminated hypervirulent clone. **J Med Microbiol**, v. 64, n. 12, p. 1462-73, Dec 2015. ISSN 1473-5644 (Electronic) 0022-2615 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26445995> >.

RIBEIRO, A. B. et al. Psidium cattleianum fruit extracts are efficient in vitro scavengers of physiologically relevant reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chem**, v. 165, p. 140-8, Dec 15 2014. ISSN 1873-7072 (Electronic) 0308-8146 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25038660> >.

RUSSO, G. L. et al. Antioxidant polyphenols in cancer treatment: Friend, foe or foil? **Semin Cancer Biol**, v. 46, p. 1-13, Oct 2017. ISSN 1096-3650 (Electronic) 1044-579X (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28511887> >.

SABER, F. R. et al. UPLC/QTOF/MS profiling of two Psidium species and the in-vivo hepatoprotective activity of their nano-formulated liposomes. **Food Res Int**, v. 105, p. 1029-1038, Mar 2018. ISSN 1873-7145 (Electronic) 0963-9969 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29433194> >.

SANGALLI, J. et al. Antimicrobial activity of Psidium cattleianum associated with calcium hydroxide against Enterococcus faecalis and Candida albicans: an in vitro study. **Clin Oral Investig**, v. 22, n. 6, p. 2273-2279, Jul 2018. ISSN 1436-3771 (Electronic) 1432-6981 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29318387> >.

SASSE, A. D. et al. First Brazilian Consensus of Advanced Prostate Cancer: Recommendations for Clinical Practice. **Int Braz J Urol**, v. 43, n. 3, p. 407-415, May-Jun 2017. ISSN 1677-6119 (Electronic) 1677-5538 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28199075> >.

SCUR, M. C. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine. **Braz J Biol**, v. 76, n. 1, p. 101-8, Feb 2016. ISSN 1678-4375 (Electronic) 1519-6984 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26871744> >.

SOLIMAN, F. M. et al. Comparative study of the volatile oil content and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine leaves. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 54, n. 2, p. 219-225, 2016/12/01/ 2016. ISSN 1110-0931. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110093116300242> >.

TENG, T. et al. Characterization and genome analysis of novel *Klebsiella* phage Henu1 with lytic activity against clinical strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Arch Virol**, Jun 18 2019. ISSN 1432-8798 (Electronic) 0304-8608 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31214784> >.

THORLACIUS-USSING, L. et al. Age-Dependent Increase in Incidence of *Staphylococcus aureus* Bacteremia, Denmark, 2008-2015. **Emerg Infect Dis**, v. 25, n. 5, May 2019. ISSN 1080-6059 (Electronic) 1080-6040 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31002300> >.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2016. ISBN 8582713541.

TULER, A. C. et al. Flora of Espírito Santo: *Psidium* (Myrtaceae). **Rodriguésia**, v. 68, n. 5, p. 1791-1805, 2017. ISSN 2175-7860.

VINHOLES, J. et al. Effect of in vitro digestion on the functional properties of *Psidium cattleianum* Sabine (araca), *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick (butia) and *Eugenia uniflora* L. (pitanga) fruit extracts. **Food Funct**, v. 9, n. 12, p. 6380-6390, Dec 13 2018. ISSN 2042-650X (Electronic) 2042-6496 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30457133> >.

WHO, W. H. O. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. 2013. ISSN 9241506237.

_____. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. World Health Organization, 2014. ISBN 9241564741.

_____. The top 10 causes of death. 2018. Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> >. Acesso em: 29/04/2019.

XU, Z. et al. Crystal Violet and XTT Assays on *Staphylococcus aureus* Biofilm Quantification. **Curr Microbiol**, v. 73, n. 4, p. 474-82, Oct 2016. ISSN 1432-0991 (Electronic)

0343-8651 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27324342> >.

XU, Z. L. et al. Candida albicans-induced acute lung injury through activating several inflammatory signaling pathways in mice. **Int Immunopharmacol**, v. 72, p. 275-283, Jul 2019. ISSN 1878-1705 (Electronic)

1567-5769 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31005037> >.

ANEXOS

O anexo as normas para qual será submetido o manuscrito. Periódico *Food Research International*



FOOD RESEARCH INTERNATIONAL

A journal of the [Canadian Institute of Food Science and Technology \(CIFST\)](#)

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

●	Description	p.1
●	Impact Factor	p.2
●	Abstracting and Indexing	p.2
●	Editorial Board	p.2
●	Guide for Authors	p.6



ISSN: 0963-9969

DESCRIPTION

We are pleased to announce that *Food Research International* has been accepted in MEDLINE as of March 7th, 2017.

Food Research International provides a forum for the rapid dissemination of significant novel and high impact research in food science, technology, engineering and nutrition. The journal only publishes novel, high quality and high impact review papers, original research papers and letters to the editors, in the various disciplines encompassing the science and technology of food. It is journal policy to publish special issues on topical and emergent subjects of food research or food research-related areas. Special issues of selected, peer-reviewed papers from scientific meetings, workshops, conferences on the science, technology and engineering of foods will be also published.

Food Research International is the successor to the Canadian Institute of Food Science and Technology Journal. Building on the quality and strengths of its predecessor, *Food Research International* has been developed to create a truly international forum for the communication of research in **food science**.

Topics covered by the journal include:

food chemistry food microbiology and safety microbiome food **toxicology materials** science of foods **food engineering** physical **properties** of foods **sensory science food quality** health and **nutrition food biophysics** analysis of foods **food nanotechnology emerging technologies**

Subjects that **will not** be considered for publication in *Food Research International*, and will be rejected as being outside of scope, include :

Studies testing different formulations and ingredients leading to the choice of the best formulation or ingredient to be used in the manufacture of a specified food; Optimization studies aiming to determine processing conditions and/or raw materials that increase the yield of a production process or improve nutritional and sensorial qualities; Studies describing the production of ingredients and only their characterization without a strong mechanistic emphasis; Studies describing the biological activity of foods lacking identification of the compounds responsible for the reported activity will not be published. This is also valid for any other chemical compounds such as phytochemicals and minor components of foods. Compounds of interest need to be characterized at least by mass spectrometry-based methods. Studies that do not clearly prove the relationship between the structure of the compounds and their activity; Fingerprinting studies lacking molecular insights and validation sets; Studies on antimicrobial compounds that do not consider a validation step in foods, lacking full data on chemical composition indicating the compounds responsible for the inhibitory activity and, when appropriate, the use of molecular biology approaches to support the findings; Development

of analytical methods not comprising a validation step in situ that represent the range of conditions faced during their application will not be considered; Surveys of chemical, nutritional, physical and microbiological hazards will not be considered. Only papers presenting a significant data set, wide coverage, novel and supported by adequate chemical or microbiological techniques will be considered; Pharmacology and nutritional studies papers focusing in hosts rather than in foods. Pharmacology and nutritional studies that do not contain bioavailability or biofunctionality. Engineering studies lacking of mathematical verification or validation in situ, when appropriate; Fragmented studies, of low scientific quality, or poorly written. Studies with no food component.

IMPACT FACTOR

2018: 3.579 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2019

ABSTRACTING AND INDEXING

CAB International
EMBiology
AGRICOLA
BIOSIS Citation Index
Elsevier BIOBASE
FSTA (Food Science and Technology Abstracts)
International Packaging Abstracts
Science Citation Index
Publications in Food Microbiology
Index to Scientific Reviews
Current Packaging Abstracts
Chemical Abstracts
Current Contents - Agriculture, Biology & Environmental Sciences
Scopus
PubMed/Medline

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

A. Sant'Ana, State University of Campinas, Fac. of Food Engineering, Campinas, São Paulo, Brazil

Associate Editors

Emerging Technologies:

F.J. Barba, University of Valencia Faculty of Pharmacy, Burjassot, Spain

Food Chemistry and Analysis:

V. Gökmen, Hacettepe University, Ankara, Turkey

Food Engineering and Materials Science of Foods:

P. E. D. Augusto, University of São Paulo, Food Process Engineering, Department of Agri-food Industry, Piracicaba, Brazil

Food Microbiology, Safety and Quality:

V.P. Valdramidis, University of Malta, Msida, Malta

Food Omics:

A. Bordoni, University of Bologna, Dept. of Agri-Food Sciences and Technologies, Cesena, Italy

Food Toxicology:

B. De Meulenaer, Ghent University, Gent, Belgium

Microbiome

F. De Filippis, University of Naples Federico II, Napoli, Italy

Nutrigenomics:

A. Mackie, University of Leeds, Leeds, United Kingdom

Sensory Aspects of Foods:

G. Ares, Universidad de la República, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Pando, Canelones, Uruguay

Review Editor

J.M. Lorenzo, Meat Technological Centre, Ourense, Spain

Editorial Board Members

H.G. Akilloğlu, Hacettepe University, Ankara, Turkey

G. Alencikienė, Kaunas University of Technology, Kaunas, Lithuania

A. Altunkaya, Republic of Turkey Ministry of Food Agriculture and Livestock, Ankara, Turkey

E. Alvarez Parrilla, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Ciudad Juárez, Chihuahua, Mexico

P. Andrade, University of Porto, Porto, Portugal

V. Arul, Pondicherry University, Puducherry, India

J.F. Ayala-Zavala, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Laboratorio de Tecnologías Emergentes, Hermosillo, Sonora, Mexico

O. Aydin, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

J. Banas, University of Agriculture in Krakow, Krakow, Poland

N. P. Bandara, Dalhousie University Department of Plant Food and Environmental Sciences, Truro, Nova Scotia, Canada

H. Bi, Chinese Academy of Sciences (CAS), Northwest Institute of Plateau Biology, Qinghai, China

S. Bogusz, University of Sao Paulo Institute of Chemistry of Sao Carlos, SAO CARLOS, Brazil

N. Bragagnolo, State University of Campinas, CAMPINAS, Brazil

M. G. L. Brandao, Federal University of Minas Gerais, BELO HORIZONTE, Brazil

V. Cadavez, Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Food Safety and Technology Group, Bragança, Portugal

L. Cai, MGP Ingredients Inc, Atchison, Kansas, United States

M. Castilhos, São Paulo State University (Brazil), Food and Engineering Department, São José do Rio Preto, Brazil

M. A. Cerqueira, International Iberian Nanotechnology Laboratory, Braga, Portugal

M. V. L. Chandra-Hioe, University of New South Wales, Sydney, Australia

S. K. Chang, International Medical University, Department of Nutrition and Dietetics, Kuala Lumpur, Malaysia

B. Chen, North Dakota State University, Fargo, North Dakota, United States

L. Chen, Guangdong University of Technology - University Town Campus, Guangzhou, China

A. Y. Chulayo, Dohne Agricultural Development Institute, Stutterheim, South Africa

F.Y Chye, Universiti Malaysia Sabah, Faculty of Food Science and Nutrition, Sabah, Malaysia

A. Cilla, University of Valencia, Valencia, Spain

L. Cocolin, University of Turin Department of Agriculture Forestry and Food, Torino, Italy

G. G. Codina, #tefan cel Mare University of Suceava, Suceava, Romania

F. J. Contesini, State University of Campinas, CAMPINAS, Brazil

A. R. L. Costa, Federal University of Minas Gerais, BELO HORIZONTE, Brazil

J. B. Daleprane, Rio de Janeiro State University, RIO DE JANEIRO, Brazil

A. Del Caro, University of Sassari, Sassari, Italy

M.A. Del Nobile, University of Foggia, Foggia, Italy

D.R. Dias, Federal University of Lavras, LAVRAS, Brazil

F. Ding, Qingdao Agricultural University, Qingdao, China

E. Doğan Cömert, Hacettepe University, Ankara, Turkey

O. Duman, Akdeniz University, Antalya, Turkey

C. DİNÇER, Akdeniz University, Antalya, Turkey

A. F. El Sheikha, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada

G. Fan, Nanjing Forestry University, College of Light Industry and Food Engineering, Nanjing, China

X. Feng, California State University, Department of Nutrition, San Jose, California, United States

V. Fernandez-Ruiz, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain

I. Ferracino, University of Turin, Torino, Italy

S. Fiszman, Depto. de Calidad y Conservación de Alimentos, CSIC, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Paterna Valencia, Spain

A. C. Freitas, Universidade Católica Portuguesa, CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina Laboratório Associado, Porto, Portugal

C.M. Galanakis, Galanakis Laboratories, Chania, Greece

J.A. Gallegos Infante, Tecnológico Nacional de México, Durango, Dgo, Mexico

E. D. Giaouris, University of the Aegean, Food Science and Nutrition, Lemnos, Greece

M. Giordano, University of Turin, Torino, Italy

A. Giri, European Commission Joint Research Centre (JRC), Institute for Reference Materials & Measurements (IRMM), Geel, Belgium

S. Gizachew Wubshet, Nofima, Norwegian Institute of Food, Fisheries and Aquaculture Research, ÅS, Norway

A. Gomes da Cruz, Federal Institute of Rio de Janeiro (IFRJ), Department of Food, Rio de Janeiro, Brazil

C. Gomez-Corona, Firmenich SA, Sensory & Consumer Research, Mexico City, Mexico

N. Goncuoglu, Hacettepe University, Ankara, Turkey

U.A. Gonzales-Barron, Centro de Investigação de Montanha (CIMO), School of Agriculture, Polytechnic Institute of Braganza, Bragança, Portugal

S. Gorinstein, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel

L. Goya, Ciudad Universitaria, Madrid, Spain

D. Granato, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Engenharia de Alimentos, Parana, Brazil

A. H.S., University of Mysore, Department of Biotechnology, Karnataka, India

A. Hamzalioglu, Hacettepe University, Ankara, Turkey

L. He, University of Massachusetts Amherst Department of Food Science, Amherst, Massachusetts, United States

I. Hermosín-Gutiérrez, University of Castilla-La Mancha, Ciudad Real, Spain

E. Huang, UNIVERSITY OF ARKANSAS FOR MEDICAL SCIENCES, Little Rock, Arkansas, United States

S. Z. Iqbal, Government College University Faisalabad, Faisalābād, Pakistan

G. Izli, Bursa Technical University, Bursa, Turkey

M.E. Jaramillo-Flores, National School of Biological Sciences-IPN, D. F. Mexico

S. Kamiloglu, MVSM Foods, R&D department, Bursa, Turkey

P. Kandyliis, University of Patras Department of Chemistry, Patras, Greece

M. Kilic-Akyilmaz, Istanbul Technical University, İstanbul, Turkey

V. Kontogiorgos, University of Huddersfield Department of Biological Sciences, Huddersfield, United Kingdom

H. Koolen, Amazonas State University (UEA), Master's Program in Biotechnology building (MBT), Cachoeirinha, Brazil

J. Li, Nutraceutical Corporation, Operation/Formulations, Ogden, Utah, United States

A.G. Marangoni, University of Guelph, Dept. of Food Science, Guelph, Ontario, Canada

L.R.B. Mariutti, State University of Campinas, CAMPINAS, Brazil

I. G. Medina-Meza, Michigan State University, East Lansing, Michigan, United States

L. Melo, Federal University of Rio de Janeiro, RIO DE JANEIRO, Brazil

A.Z. Mercadante, State University of Campinas, CAMPINAS, Brazil

D. Mercer, University of Guelph Kemptville Campus, Kemptville, Ontario, Canada

A. Mishra, University of Georgia, Athens, Georgia, United States

B. B. Misra, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina, United States

S. Mleko, University of Life Sciences in Lublin, Lublin, Poland

A. Mousavi Khaneghah, State University of Campinas, CAMPINAS, Brazil

Y. Mrabet, Institut National de Recherche et d'Analyse Physico-chimique (INRAP), Ariana, Tunisia

V. Muchenje, University of Fort Hare, Alice, RSA

K. A. Omar, Zanzibar Food and Drug Agency, Food Safety Control Department, Zanzibar Town, Tanzania, United Republic of

M. Oroian, #tefan cel Mare University of Suceava, Suceava, Romania

E. H. Papaioannou, Lancaster University, Lancaster, United Kingdom

M.T. Pedrosa Silva Clerici, State University of Campinas, CAMPINAS, Brazil

V.I. Petropulos, University Goce Delcev, Faculty of Agriculture, Shtip, Macedonia, the former Yugoslav Republic of

G. Petzold, University of Bio-Bio - Chillan Campus, Chillan, Chile

G. Picariello, National Research Council of Italy (CNR), Inst. of Food Sciences, Avellino, Italy

F. Pinu, New Zealand Institute for Plant and Food Research, Sandringham, New Zealand

P. Putnik, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

J. Pérez-Jiménez, Institute of Food Science, Technology and Nutrition (ICTAN-CSIC), Spanish Research Council, Madrid, Spain

F. Pérez-Rodríguez, University of Cordoba, Cordoba Spain

C. S. Ranadheera, University of Melbourne, School of Agriculture & Food, Melbourne, Victoria, Australia

H. Rodrigues, State University of Campinas, CAMPINAS, Brazil

S. Rohn, University of Hamburg, Hamburg, Germany

D.W. Schaffner, Rutgers The State University of New Jersey, New Brunswick, New Jersey, United States

S. Sforza, University of Parma, Parma, Italy

S. Silbir, Iğdir Üniversitesi, Food Engineering Department, Merkez/Iğdir, Turkey

H. Singh, Massey University, Riddet Institute, Palmerston North, New Zealand

P. Sirisomboon, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang - Chao Khun Taharn Ladkrabang Campus, Bangkok, Thailand

U. Sonesson, SIK, The Swedish Institute for Food & Biotechnology, Göteborg, Sweden

W. Sun, South China University of Technology, Guangzhou, China

C.H Tang, South China University of Technology School of Food Science and Engineering, Guangzhou, China

I. Techakriengkrai, Ramkhamhaeng University, Bangkok, Thailand

Z. Teng, University of Maryland at College Park, College Park, Maryland, United States

G. C. Tenore, University of Naples Federico II, Napoli, Italy

R.V. Tikekar, University of Maryland at College Park, College Park, Maryland, United States

R. Tofalo, University of Teramo, Teramo, Italy

A. D. Troise, University of Naples Federico II, Napoli, Italy

E. Troncoso Ahués, Universidad Tecnológica Metropolitana, Santiago, Czech Republic

U. Utra, Universiti Sains Malaysia, School of Industrial Technology, Penang, Malaysia

D. Valentin, University of Burgundy, Dijon, France

P. Valentão, University of Porto, Porto, Portugal
M. Viuda-Martos, Universidad Miguel Hernández (UMH), Dpto Tecnología Agroalimentaria, Orihuela, Alicante, Spain
B. Wang, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, China
G. J. Wei, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China
J. Weissbrodt, Symrise AG, Holzminden, Germany
M. Wesolowski, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland
Y. Ye, Hefei University of Technology, Hefei, China
S. K. Yeap, Xiamen University, Xiamen, China
C.-T. Yeh, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan
Y. Yilmaz, Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turkey
L. Yu, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), Division of Materials Science and Engineering, Clayton, Victoria, Australia
U. Yucel, Kansas State University, Manhattan, Kansas, United States
C. Yilmaz, Hacettepe University, Ankara, Turkey
G. L. Zabet, Federal University of Santa Maria, Campus of Cachoeira do Sul, Cachoeira do Sul, Brazil
W.-C. Zeng, Sichuan University, College of Light Industry, Sichuan, China
H. Zhao, South China University of Technology, Guangzhou, China
V. de Freitas, University of Porto, Porto, Portugal
M. R. de Moura Aouada, University of Sao Paulo, SAO PAULO, Brazil
A. Álvarez-Ordóñez, Teagasc, Food Research Centre, Cork, Ireland
S. Žilić, Maize Research Institute, Department of Food Technology and Biochemistry, Belgrade, Serbia

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Food Research International is the successor to the Canadian Institute of Food Science and Technology Journal. Building on the quality and strengths of its predecessor, *Food Research International* has been developed to create a truly international forum for the communication of research in food science.

Food Research International provides a forum for the rapid dissemination of significant novel and high impact research in food science, technology, engineering and nutrition. The journal only publishes novel, high quality and high impact review papers, original research papers and letters to the editors, in the various disciplines encompassing the science and technology of food. It is journal policy to publish special issues on topical and emergent subjects of food research or food research-related areas. Special issues of selected, peer-reviewed papers from scientific meetings, workshops, conferences on the science, technology and engineering of foods will be also published.

Food Research International does not publish papers with a product development emphasis, statistical optimizations of processes or surveys. This is based on the editorial policy of the journal to publish more fundamental work with a strong quantitative emphasis and of a general nature.

Topics covered by the journal include:

Emerging Technologies Sensory Aspects of Foods Food Toxicology Food Chemistry and Analysis Food Omics Nutrition, health and food digestion Food Engineering and Materials Science of Foods Functional Foods Food Microbiology, Safety and Quality

Please also refer to the list of subjects not considered in *Food Research International* before you submit your paper. These topics can be found in [the full aims and scope of the journal](#).

Types of paper

Research papers - original full-length research papers which have not been published previously, except in a preliminary form, and should not exceed 6,000 words. The word count refers to the text of the manuscript per se, i.e., references, figures and tables are not considered. Review articles - will be accepted in all areas of food science covered by the scope of the journal. Review articles focused on recent literature published (for example, over the previous 2-5 years) as well as comprehensive and definitive reviews will be considered. Review papers must contain critical assessment of literature and may also contains author's views on the subject. There are no word counts and reference numbers limit for review papers. Short communications - Food Research International does not publish short communication papers. Letters to the Editor - Letters are published from time to time on matters of topical interest. Book Reviews

Food Research International is concerned with safeguarding the rights and welfare of animals and human research subjects. Authors must provide a letter with the approval from the ethics committee from the respective University or research center where the study was performed.

Contact details for submission

Submission for all types of manuscripts to *Food Research International* proceeds totally online. Via the Elsevier Editorial System (EES) website for this journal, <http://ees.elsevier.com/foodres>, you will be guided step-by-step through the creation and uploading of the various files.

Questions regarding content of a proposed submission can be directed to: foodresearchinternational@gmail.com.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex and gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where

the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.
- The Author is entitled to post the [accepted manuscript](#) in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The [published journal article](#) cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peer-reviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

Gold open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For gold open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The gold open access publication fee for this journal is **USD 3800**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an

appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Authors must provide and use an email address unique to themselves and not shared with another author registered in EES, or a department.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review](#).

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

All pages of the manuscript must be numbered. All lines must be numbered continuously throughout the manuscript.

General: Manuscripts must be typewritten, with 2 cm margins. Each page must be numbered, and lines must be consecutively numbered from the start to the end of the manuscript. Good quality printouts with a font size of 12 or 10 pt are required. The corresponding author should be identified

(include a valid E-mail address). Full postal and email addresses must be given for all co-authors. Authors should consult a recent issue of the journal for style if possible. The Editors reserve the right to adjust style to certain standards of uniformity.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Authors are encouraged to read the helpful notes on statistics applied in the planning of experiments and assessment of results in the field of food science and technology. The more important univariate and bivariate parametric and non-parametric methods, their advantages and disadvantages are presented in "Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology by Granato (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913005723>).

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text (Introduction, Material and Methods, Results, Conclusion), Acknowledgements, Appendix, References. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote. All other footnotes (except for table footnotes) should be identified with superscript Arabic numbers. The title of the paper should unambiguously reflect its contents.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-

case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A graphical abstract is mandatory for this journal. It should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements.

Keywords

Immediately after the abstract, provide at least 6 keywords (maximum allowed: 12 keywords), using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. **Keywords must be different from title to enhance searchability and findability.** These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;

- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables must be placed on separate page(s) at the end of the manuscript. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software.](#)

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/food-research-international>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American Psychological Association, Sixth Edition, ISBN 978-1-4338-0561-5, copies of which may be [ordered online](#) or APA Order Dept., P.O.B. 2710, Hyattsville, MD 20784, USA or APA, 3 Henrietta Street, London, WC3E 8LU, UK.

List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communications*, 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2018). The art of writing a scientific article. *Heliyon*, 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style*. (4th ed.). New York: Longman, (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). New York: E-Publishing Inc.

Reference to a website:

Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK. (2003). <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> Accessed 13 March 2003.

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T. (2015). *Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions*. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to a conference paper or poster presentation:

Engle, E.K., Cash, T.F., & Jarry, J.L. (2009, November). The Body Image Behaviours Inventory-3: Development and validation of the Body Image Compulsive Actions and Body Image Avoidance Scales. Poster session presentation at the meeting of the Association for Behavioural and Cognitive Therapies, New York, NY.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>