



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

MARCELA DE ANDRADE BERNAL FAGIANI

**ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E DE COMPOSTOS BIOATIVOS
DO CHÁ DO JUCÁ (*LIBIDIBIA FERREA*) E SEUS EFEITOS NA COLITE DISTAL
INFLAMATÓRIA NÃO INFECCIOSA INDUZIDA EM RATOS**

MARCELA DE ANDRADE BERNAL FAGIANI

**ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E DE COMPOSTOS BIOATIVOS
DO CHÁ DO JUCÁ (*LIBIDIBIA FERREA*) E SEUS EFEITOS NA COLITE DISTAL
INFLAMATÓRIA NÃO INFECCIOSA INDUZIDA EM RATOS**

Tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia e Saúde Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientadora:
Prof^a. Dr^a Cecília Laposy Santarém

615.321
F155a

Fagiani, Marcela de Andrade Bernal.

Análise da composição nutricional e de compostos bioativos do chá do jucá (*Libidibia ferrea*) e seus efeitos na colite distal inflamatória não infecciosa induzida em ratos / Marcela de Andrade Bernal Fagiani. – Presidente Prudente, 2022.
78f.: il.

Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal)
- Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2022.

Bibliografia.

Orientador: Cecília Laposy Santarém

1. Plantas medicinais. 2. Antioxidantes. 3. Inflamação. 4. Intestino grosso. I. Título.

MARCELA DE ANDRADE BERNAL FAGIANI

ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO CHÁ DO JUCÁ (*LIBIDIBIA FERREA*) E SEUS EFEITOS NA COLITE DISTAL INFLAMATÓRIA NÃO INFECCIOSA INDUZIDA EM RATOS

Tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia e Saúde Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 30 de setembro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Cecília Laposy Santarém
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof^a. Dr^a. Rosa Maria Barilli Nogueira
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof^a. Dr^a. Inês Cristina Giometti Ceda
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof^a. Dr^a. Ianny Brum Reis
Universidade Estadual Paulista -Unesp
Araraquara-SP

Prof. Dr. Antonio Cláudio Goulart Duarte
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)
Rio de Janeiro-RJ

DEDICATÓRIA

Dedico o presente trabalho primeiramente a Deus, que é base de tudo em minha vida. À

Santa Teresinha, por todas as graças concebidas.

À minha avó, que sempre me apoiou e acreditou em mim, e pela sua presença em todos os momentos de minha vida, em que muitos deles não foram fáceis.

À minha mãe (*in memoriam*) e ao meu avô (*in memoriam*), que são meus anjos da guarda.

Ao meu namorado que, de forma especial, sempre esteve presente em todos esses momentos, dando-me apoio e coragem.

Aos amigos, que foram essenciais durante esse processo, pela atenção, carinho, preocupação, zelo e por fazerem momentos difíceis se tornarem mais leves.

Gratidão a todos vocês, saibam que foram essenciais durante a minha jornada para a obtenção deste grau acadêmico.

AGRADECIMENTOS

Às Professoras Doutoras do curso de Nutrição da Unoeste, Sandra Cristina Genaro e Sabrina Alves Lenquiste pela parceria, companheirismo e compartilhamento de conhecimentos durante a execução dessa pesquisa. À Professora Doutora Cecília Laposy Santarém por aceitar participar da orientação dessa pesquisa, pelo apoio, compreensão e conhecimentos compartilhados durante a orientação desta tese.

À Gracielle, Mayara, Mariana, Alexandre e Talita, funcionários do Biotério Experimental, Laboratório de Genética Molecular e do Laboratório de Anatomia Patológica, pela disposição e toda a gentileza que ambos despenderam durante os períodos experimentais.

Aos colegas de pesquisa, Éricka, Fabíola, Anna Caroline e Liliane que me auxiliaram em diversas etapas experimentais e laboratoriais, a contribuição de vocês foi essencial para possibilitar a realização dessa pesquisa. Aos alunos de iniciação científica que se dedicaram e participaram das etapas experimentais e laboratoriais, contribuindo, desta forma, para a realização dessas pesquisas.

*“Resiliência é a capacidade de sair de dentro de si,
mesmo naqueles momentos em que tudo parece
estar muito ruim e encarar o mundo do lado de fora
de cabeça erguida, olho no olho e com o maior
sorriso que tiver em seu arsenal de sorrisos”.*

(Autor Desconhecido)

RESUMO

Análise da composição nutricional e de compostos bioativos do chá do jucá (*Libidibia ferrea*) e seus efeitos na colite distal inflamatória não infecciosa induzida em ratos

O Brasil possui abundância de plantas nas quais destaca-se o Jucá ou “Pau ferro” e pode ser utilizado na medicina popular devido às suas propriedades antidiarreicas, cicatrizantes e analgésicas. A colite é uma doença inflamatória que causa má absorção de nutrientes e carências nutricionais. A fitoterapia para o tratamento de doenças inflamatórias intestinais é evidenciado na literatura com a finalidade de reduzir a inflamação e trazer menos efeitos colaterais. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do chá de vagens com sementes de Jucá trituradas juntas, para o tratamento curativo em ratos com colite aguda. Determinou-se os nutrientes e antioxidantes do Jucá. Utilizou-se 40 ratos *Wistar* machos, divididos em 4 grupos (n=10/grupo): controle (animais saudáveis), controle colite (colite induzida), controle droga (recebendo sulfassalazina (300 mg kg⁻¹/dia, por gavagem oral, durante 7 dias) e grupo jucá (receberam uma dose do fruto de 285mg/Kg/dia de jucá na forma de chá, via gavagem, durante 7 dias). O chá foi preparado por meio de infusão. Foi determinado o índice de atividade da doença, escore de dano macroscópico do intestino grosso, análises histopatológicas do intestino grosso, exames bioquímicos e de mensuração de antioxidação. O Jucá era maduro com teor de matéria seca (88,57±0,69 g/100 g), proteínas (7,31±0,21 mg/100 g), ferro (11,87±2,14 mg/100 g), zinco (2,03±0,07 mg/100 g) elevados. No chá foram identificados compostos fenólicos (12,22±1,04 mg GAE/g⁻¹), flavonóides (4,63±0,76 mg Catequina/g⁻¹) e antioxidantes (48,29±5,5 µM Trolox g⁻¹). O grupo que recebeu o chá do jucá reduziu o consumo de água e ração (p<0,0001), apresentou maior índice de atividade da doença no dia 1 (p<0,0001) e no dia 7 (p=0,004). Todos os animais com colite apresentaram hiperemia (p=0,001) e aderência de órgãos (p<0,0001). A relação albumina/globulina foi menor nos animais que consumiram o chá (p<0,001) e a ALT (p=0,04) e o peso do fígado (p=0,001) estavam elevados nos animais com sulfassalazina. O Jucá possui elevado teor de proteína, e minerais. Houve maior concentração de compostos fenólicos, flavonoides e antioxidantes no extrato metanólico, porém, é por meio do consumo do chá das partes da planta que a população faz o uso do Jucá. A reação inflamatória causada pela colite foi de característica aguda. Houve aumento de hiperemia intestinal, infiltrado neutrofílico, aderência e metaplasia nos animais com colite. A relação albumina/globulina indicou piora no desfecho da colite dos ratos com Jucá e o uso da sulfassalazina gerou toxicidade hepática.

Palavras-chave: Plantas medicinais; Antioxidantes; Inflamação; Intestino grosso; Diarreia.

ABSTRACT

Analysis of the nutritional composition and bioactive compounds of jucá tea (*Libidibia ferrea*) and their effects on non-infectious inflammatory distal colitis induced in rats

Brazil has an abundance of plants in which Jucá or “Pau ferro” stands out and can be used in folk medicine due to its antidiarrheal, healing and analgesic properties. Colitis is an inflammatory disease that causes malabsorption of nutrients and nutritional deficiencies. Phytotherapy for the treatment of inflammatory bowel diseases is evidenced in the literature in order to reduce inflammation and bring fewer side effects. The aim of the study was to evaluate the effects of pod tea with Jucá seeds crushed together for curative treatment in rats with acute colitis. Jucá nutrients and antioxidants were determined. Forty male Wistar rats were divided into 4 groups (n=10/group): control (healthy animals), control colitis (induced colitis), control drug (receiving sulfasalazine (300 mg kg⁻¹/day, by oral gavage for 7 days) and the jucá group (they received a dose of the fruit of 285mg/Kg/day of jucá in the form of tea, via gavage, for 7 days). The tea was prepared by infusion. The disease activity index, macroscopic damage score of the large intestine, histopathological analysis of the large intestine, biochemical tests and antioxidation measurement were determined. Jucá was ripe with dry matter content (88.57±0.69 g/100 g), protein (7.31±0.21 mg/100 g), iron (11.87±2.14 mg/100 g), zinc (2.03±0.07 mg/100 g) high. In tea, phenolic compounds (12.22±1.04 mg GAE/g-1), flavonoids (4.63±0.76 mg Catechin/g-1) and antioxidants (48.29±5.5 µM Trolox g-1). The group that received jucá tea reduced water and feed consumption (p<0.0001), had a higher rate of disease activity on day 1 (p<0.0001) and on day 7 (p=0.004). All animals with colitis presented hyperemia (p=0.001) and organ adhesion (p<0.0001). The albumin/globulin ratio was lower in the animals that consumed the tea (p<0.001) and the ALT (p=0.04) and liver weight (p=0.001) were high in the animals with sulfasalazine. Jucá has a high content of protein and minerals. There was a higher concentration of phenolic compounds, flavonoids and antioxidants in the methanolic extract, however, it is through the consumption of tea from the parts of the plant that the population uses Jucá. The inflammatory reaction caused by colitis was acute. There was an increase in intestinal hyperemia, neutrophilic infiltrate, adherence and metaplasia in animals with colitis. The albumin/globulin ratio indicated a worsening in the outcome of colitis in rats with Jucá and the use of sulfasalazine generated liver toxicity.

Keywords: Plants, Medicinal; Antioxidants; Inflammation; Intestine, Large; Diarrhea.

LISTA DE SIGLAS

| | |
|---------|--|
| ALT | – Alanina Aminotransferase |
| AST | – Aspartato aminotransferase |
| A/G | - Albumina/globulina |
| CEUA | – Comissão de Ética no Uso de Animais da Unoeste |
| DII | – Doenças Inflamatórias Intestinais |
| DM | – Diabetes Mellitus |
| FRAP | – Ferric Reducing Antioxidant Power (Capacidade de Redução do Ferro) |
| GAE | – Equivalente de Ácido Gálico |
| GC | – Grupo Controle |
| GCC | – Grupo Controle Colite |
| GCD | – Grupo Colite Droga |
| GCJ | – Grupo Colite Jucá |
| IAD | – Índice de Atividade da Doença |
| IG | – Intestino Grosso |
| LF | – Libidibia ferrea |
| NRC | – National Research Council |
| PA | – Pará |
| TE | – Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox |
| UNOESTE | – Universidade do Oeste Paulista |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|----|
| ARTIGO A- | CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO CHÁ E EXTRATO METANÓLICO DE VAGENS COM SEMENTES DE <i>LIBIDIBIA FERREA</i> (JUCÁ)..... | 11 |
| ARTIGO B- | CHÁ DE VAGENS COM SEMENTES DE <i>LIBIDIBIA FERREA</i> (JUCÁ) NÃO ATENUA REAÇÃO INFLAMATÓRIA CAUSADA POR COLITE DISTAL INFLAMATÓRIA NÃO INFECCIOSA INDUZIDA EM RATOS..... | 30 |
| ANEXO A- | PARECER FINAL DO COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) E DA COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS (CEUA)..... | 59 |
| ANEXO B- | NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA <i>RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT</i> (ARTIGO A)..... | 60 |
| ANEXO C- | INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA NUTRITION (ARTIGO B)..... | 63 |

ARTIGO A- CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO CHÁ E EXTRATO METANÓLICO DE VAGENS COM SEMENTES DE *LIBIDIBIA FERREA* (JUCÁ)

Caracterização química do chá e extrato metanólico de vagens com sementes de *Libidibia ferrea* (Jucá)

Chemical characterization of tea and methanolic extract of pods with seeds of *Libidibia ferrea* (Jucá)

Caracterización química de té y extracto metanólico de vainas con semillas de *Libidibia ferrea* (Jucá)

Marcela de Andrade Bernal Fagiani, ORCID: 0000-0001-5894-8310, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), e-mail: marcelafagiani16@gmail.com

Bianca Miranda Espinola Estopa, ORCID: 0000-0002-8569-1001, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), e-mail: bmiranda.ee@gmail.com

Diogo Barbi da Silva, ORCID: 0000-0002-0586-7362, Universidade da Silva (Unoeste), e-mail: diogo1092@gmail.com

Leticia Jalloul Guimarães, ORCID: 0000-0001-9768-7977, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), e-mail: leticia_jg@hotmail.com

Ana Paula Marques Andrade, ORCID: 0000-0003-0297-3677, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), e-mail: anamarquespaula222@hotmail.com

Sandra Cristina Genaro, ORCID: 0000-0003-2941-607X, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), e-mail: sandragenaro@gmail.com

Cecília Laposy Santarém, ORCID: 0000-0002-4775-6142, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), e-mail: claposy@unoeste.br

Sabrina Alves Lenquiste, ORCID: 0000-0002-5898-4618, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), e-mail: sabrina.alves@unoeste.br

Resumo

O Brasil possui abundância em plantas que podem ser utilizadas para fins terapêuticos, dentre elas, o Jucá que possui propriedades antiinflamatórias, antidiarreicas e cicatrizante. Objetivou-se avaliar as características químicas de vagens e sementes do Jucá. Foram preparados o chá e extrato metanólico para determinar o teor de nutrientes do fruto bem como verificou-se a presença de antioxidantes, compostos fenólicos e flavonoides. O Jucá possui Boro ($2,57 \pm 0,15$), Cobre ($0,57 \pm 0,16$), Ferro ($11,87 \pm 2,14$), Manganês ($4,93 \pm 0,45$), Zinco ($2,03 \pm 0,07$), Nitrogênio Total ($1,03 \pm 0,00$), Fósforo ($0,12 \pm 0,01$), Potássio ($1,10 \pm 0,14$), Cálcio ($0,22 \pm 0,03$), Magnésio ($0,07 \pm 0,01$) e Enxofre ($0,09 \pm 0,01$). Na avaliação da composição centesimal verificou-se também a matéria seca ($88,57 \pm 0,69$), extrato etéreo ($0,24 \pm 0,01$), matéria mineral ($3,17 \pm 0,06$), proteína bruta ($7,31 \pm 0,21$), fibra bruta ($15,25 \pm 0,4$), cinzas ($24,6 \pm 3,18$) e composição energética total ($92,38 \pm 0,87$ Kcal/g). O Jucá contém compostos fenólicos no chá ($12,22 \pm 1,04$) e no extrato ($142,74 \pm 16,59$), flavonoides no chá ($4,63 \pm 0,76$) e no extrato ($33,89 \pm 4,63$) e antioxidantes no chá ($48,29 \pm 5,5$) e no extrato ($520,87 \pm 57,52$). O Jucá possui elevado teor de proteína, minerais e de fibras. Houve maior concentração de compostos fenólicos, flavonoides e antioxidantes no extrato metanólico, porém, é por meio do consumo do chá das partes da planta que a população faz o uso do Jucá.

Palavras-chave: Fitoquímicos; Taninos; Plantas medicinais; Antioxidantes; Minerais.

Abstract

Brazil has an abundance of plants that can be used for therapeutic purposes, among them, Jucá, which has anti-inflammatory, antidiarrheal and healing properties. The objective was to evaluate the characteristics of Jucá pods and seeds. Metabolic extracts were prepared for the nutrient content of the fruit as well as the presence of antioxidants, phenolic compounds and flavonoids. Jucá has Boron (2.57 ± 0.15), Copper (0.57 ± 0.16), Iron (11.87 ± 2.14), Manganese (4.93 ± 0.45), Zinc (2.03 ± 0.07), Total Nitrogen (1.03 ± 0.00), Phosphorus (0.12 ± 0.01), Potassium (1.10 ± 0.14), Calcium (0.22 ± 0.03), Magnesium (0.07 ± 0.01) and Sulfur (0.09 ± 0.01). In the evaluation of centesimal composition, it was also verified the dry matter (88.57 ± 0.69) ethereal extract (0.24 ± 0.01), mineral matter (3.17 ± 0.06), crude protein (7.31 ± 0.21), crude fiber (15.25 ± 0.4), ashes (24.6 ± 3.18) and total energy composition (92.38 ± 0.87 Kcal/g). Jucá contains phenolic compounds in tea (12.22 ± 1.04) and extract (142.74 ± 16.59), flavonoids in tea (4.63 ± 0.76) and extract (33.89 ± 4.63) and antioxidants in tea (48.29 ± 5.5) and extract (520.87 ± 57.52). Jucá has a protein, mineral and fiber content. There was a higher concentration of phenolic compounds, flavonoids and

antioxidants in the methanolic extract, however, it is through the tea from the parts of the plant that the population uses Jucá.

Keywords: Phytochemicals; Tannins; Plants, Medicinal; Antioxidants; Minerals.

Resumen

Brasil tiene una abundancia de plantas que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos, entre ellas, Jucá, que tiene propiedades antiinflamatorias, antidiarreicas y cicatrizantes. El objetivo fue evaluar las características de las vainas y semillas de Jucá. Se prepararon extractos metabólicos por el contenido de nutrientes del fruto así como la presencia de antioxidantes, compuestos fenólicos y flavonoides. Jucá tiene Boro ($2,57 \pm 0,15$), Cobre ($0,57 \pm 0,16$), Hierro ($11,87 \pm 2,14$), Manganeseo ($4,93 \pm 0,45$), Zinc ($2,03 \pm 0,07$), Nitrógeno Total ($1,03 \pm 0,00$), Fósforo ($0,12 \pm 0,01$), Potasio ($1,10 \pm 0,14$), Calcio ($0,22 \pm 0,03$), Magnesio ($0,07 \pm 0,01$) y Azufre ($0,09 \pm 0,01$). En la evaluación de la composición proximal también se verificó la materia seca ($88,57 \pm 0,69$), extracto etéreo ($0,24 \pm 0,01$), materia mineral ($3,17 \pm 0,06$), proteína cruda ($7,31 \pm 0,21$), fibra cruda ($15,25 \pm 0,4$), ceniza ($24,6 \pm 3,18$) y composición energética total ($92,38 \pm 0,87$ Kcal/g). Jucá contiene compuestos fenólicos en té ($12,22 \pm 1,04$) y extracto ($142,74 \pm 16,59$), flavonoides en té ($4,63 \pm 0,76$) y extracto ($33,89 \pm 4,63$), y antioxidantes en té ($48,29 \pm 5,5$) y extracto ($520,87 \pm 57,52$). Jucá tiene un contenido de proteínas, minerales y fibra. Hubo mayor concentración de consumo público de compuestos fenólicos, flavonoides y antioxidantes en el extracto metanólico, sin embargo, es a través del té de las partes de la planta que la población utiliza Jucá.

Palabras clave: Fitoquímicos; Taninos; Plantas medicinales; Antioxidantes; Minerales.

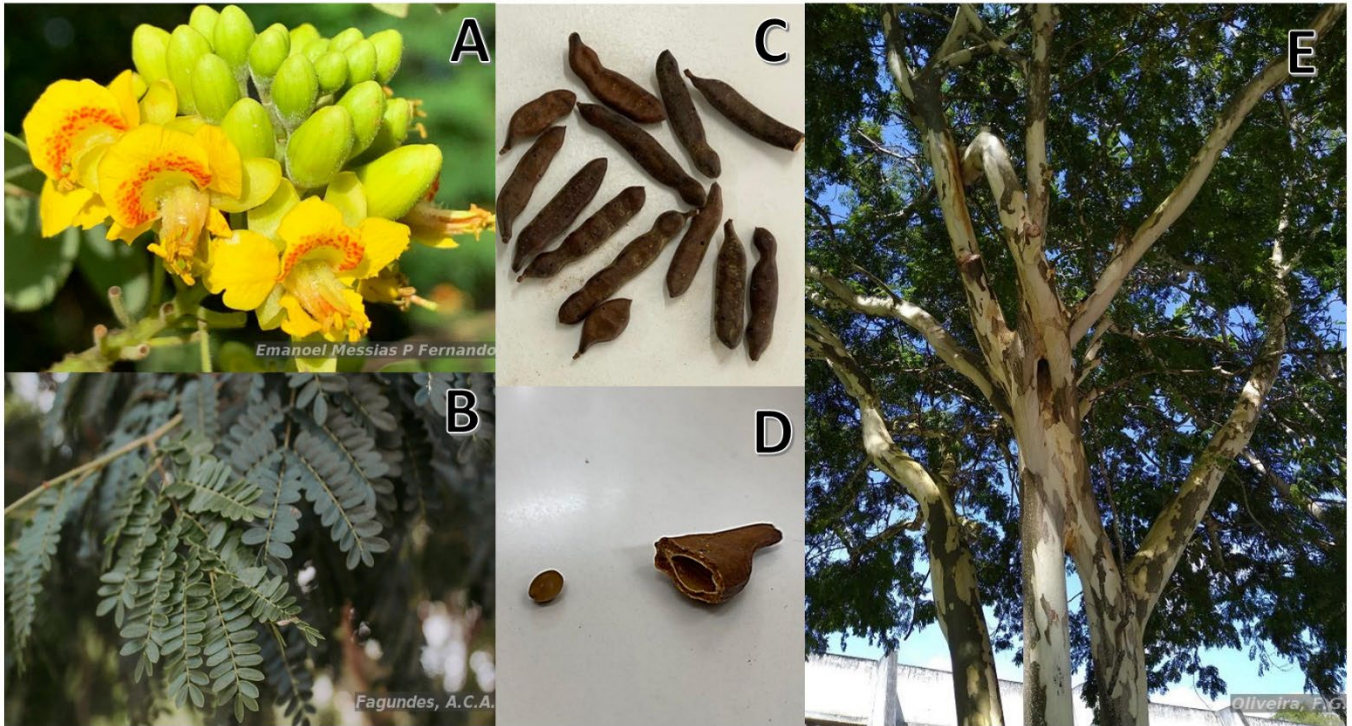
1. Introdução

O Brasil foi reconhecido como o maior detentor da diversidade biológica do planeta. Possui abundância de plantas que se distinguem e variam dependendo da região do país (Sousa et al., 2017). As plantas são reconhecidas como recursos naturais que acompanham o homem desde o início da civilização (Beltreschi, Lima & Cruz, 2019) fazendo parte da história da humanidade que eram e continuam sendo utilizadas como uma forma de melhorar condições de vida e chances de sobrevivência (Palheta et al., 2017).

Vegetações nativas de determinadas regiões possuem diversas funções, podendo ser utilizados para fins alimentares, de forragens, combustíveis bem como para fins medicinais. Em continentes que possuem países classificados como em desenvolvimento, comumente ocorre a utilização de plantas para fins medicinais em até 80% de sua população, tornando assim essas plantas, uma fonte primária de cuidados à saúde e que em muitas das vezes, este acaba sendo a única forma de tratamento disponível para parte de sua população (Caballero-Serrano et al., 2019).

Dentre os frutos medicinais no Brasil, destaca-se o Jucá ou “Pau ferro” que também recebe os nomes populares de Ibira-obi, Pau-ferro-da-mata, Muirá-itá, Peroba-sobro, Quiripiranga, entre outros (Di Stasi & Hiruma-Lima, 2002), e é fruto da espécie arbórea *Libidibia ferrea* (LF) que antes recebia a nomenclatura de *Caesalpinia ferrea* mart. ex tul. Var. *Ferrea* (Forzza et al., 2010), que se distribui por toda a região tropical do Brasil em locais onde há floresta tropical sazonalmente seca sendo encontrado principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (Gagnon et al., 2013). O site do programa Flora e Funga do Brasil que é administrado pelo instituto de pesquisa do jardim botânico do Rio de Janeiro disponibiliza algumas imagens de partes da LF (Figura 1).

Figura 1. Imagens de partes da *Libidibia Ferrea*.



Fonte: letras A, B e E: REFLORA/CNPQ; letras C e D: Próprio autor. A: Flores, B: Folhas, C: Vagens inteiras, D: Vagem segmentada para demonstrar a semente, E: Troncos.

As árvores de *LF* podem atingir até 30 metros de altura e são encontradas na região da caatinga e essa planta pode ser diferenciada de acordo com as suas características morfológicas e anatômicas (Silva, et al., 2017) que incluem a análise de suas flores, frutos, composição fitoquímica, entre outros aspectos. Seu tronco possui cascas lisas, fragmentadas que variam em tons de branco, cinza, marrom claro e verde, conferindo o aspecto de “pele de leopardo”. Suas flores são de coloração amarela possuindo pétalas que contém tricomas papilíferos que se assemelham a tentáculos em sua superfície. Seus frutos são castanhos-escuros (Gagnon et al., 2013).

Dessa espécie vegetativa são aproveitadas praticamente todas as frações, podendo utilizar seus troncos para fins de reflorestamento, controle de erosões e assoreamento em margens de rios, ornamentação de ambientes, construção civil e marcenaria (Silva et al., 2017). As sementes são utilizadas para finalidade de propagação da espécie, apesar de relatos de dormência relacionada à estrutura das sementes por serem rígidas, necessitando muitas vezes de tratamento com ácidos ou água quente para facilitar sua germinação (Câmara et al., 2008). Suas sementes caracterizam a planta como uma leguminosa, sendo que essa fração da planta possui em sua composição lignina que é um tipo de carboidrato complexo e ácidos graxos (Saliba et al., 2001; Coelho et al., 2013).

A *LF* encontra-se na lista divulgada pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde do Brasil e também pelo Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo para uso do fruto inteiro para uso tópico por meio de compressas (Ministério da Saúde, 2009; Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo, 2019). Os elementos da *LF* podem ser utilizados de diversas maneiras, sendo elas por meio de chás,

decoções, infusões, xaropes, macerações e pomadas a depender da finalidade que se espera obter por meio do uso dessa planta tendo em vista que as diversas formas de preparo permitem extrair seus compostos bioativos e fitoquímicos que incluem flavonoides, ácidos orgânicos, saponinas, cumarinas, fenóis, taninos, ácido elágico e ácido gálico (Macêdo et al., 2020).

De maneira geral, os frutos da *LF* são utilizados na medicina popular devido às suas propriedades antidiarreicas, anticatarral, cicatrizantes, para analgésicos e larvicida contra *Aedes aegypti* (Câmara et al., 2008; Coelho et al., 2013, Silva et al., 2017). As cascas podem ser utilizadas na medicina popular para o tratamento de moléstias bronco-pulmonares, tosses, Diabetes Mellitus (DM), reumatismo, neoplasias malignas, doenças gastrointestinais, diarreia, inflamação, dor e febre (Oliveira et al., 2010). As cascas podem ser trituradas e transformadas em pó, e dessa forma possui finalidade para o tratamento de feridas cutâneas (Coelho et al., 2013).

Sabe-se que a cicatrização envolve a reorganização de tecidos orgânicos a fim de favorecer a restauração tissular e o Jucá pode promover a reparação tecidual devido à sua composição de taninos. Os taninos realizam a precipitação de proteínas no local da lesão e formam um revestimento que protege o local e possibilita a cicatrização (Oliveira et al., 2010).

Os taninos presentes na *LF* representam também sua capacidade de proteção antioxidante para células normais, e isso se deve provavelmente ao teor de ácido gálico e elágico da planta de forma que seus componentes possuem benefícios para amenizar a dor, regular inflamação, atuando sobre sinalização de serotonina, bradicinina, histaminas e prostaglandinas (Falcão et al., 2019).

Seus benefícios para portadores de DM associam-se à quantidade e tipo de fibras presentes na *LF* e ao potencial redutor ou inibitório para o estresse oxidativo, evitando assim a degradação de estruturas celulares, oxidação de proteínas e lipídios (Cunha et al., 2016). Acredita que esse efeito seja obtido devido a sua composição de polissacarídeos vegetais, e esses componentes podem conferir até mesmo propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias, por meio da redução de edemas em consequência da diminuição de agregado leucocitário e de migração de neutrófilos no local da inflamação. Essa inibição de inflamação pode ocorrer também em regiões articulares e a *LF* parece ter ação pontual sobre inflamações agudas (Holanda et al., 2021).

Acredita-se que o efeito anti-inflamatório da *LF* sobre inflamações agudas como no caso de colite se deve a composição de flavonoides nesse vegetal, tendo em vista que essas substâncias possuem efeitos antioxidantes, anti-inflamatórias que auxiliam a manter as atividades anti-apoptóticas celulares e equilíbrio de citocinas inflamatórias (Freitas et al., 2012; Guven et al., 2019).

A *LF* é comercializada em feiras livres onde são vendidas suas sementes e folhas diante do aconselhamento dos comerciantes para uso na forma de chá, bochecho, garrafada, aplicação tópica com álcool, com indicação para inflamações, cicatrização, aftas, anti-hemorrágico e para abscessos, devido a sua capacidade analgésica e antibacteriana (Rodrigues et al., 2021; Emmi et al., 2021). As vagens e sementes podem ser utilizadas para cicatrização no intuito de reduzir lesões, além de ter indicações terapêuticas para pneumonia, anemia, diarreia, cólica e gastrite (Macêdo et al., 2020).

A partir de uma roda de conversa (Simionato & Gouveia, 2019), levantou-se informações sobre o uso de uma planta medicinal utilizada para dores abdominais e cicatrização. Tal planta recebe o nome de Jucá (*Libidibia ferrea*). Devido à facilidade de obter os seus frutos em diversas épocas do ano (Ramires et al., 2019), utilizou-se as vagens sem extrair as sementes para investigar a composição nutricional e antioxidante mediante associação dessas duas partes da planta.

Apesar de haver variedade de estudos sobre a composição fitoquímica da *LF* (Cavalheiro et al., 2009; Cunha et al., 2016; Falcão et al., 2019; Macêdo et al., 2020) são escassos os que elucidam sua caracterização química de macro e

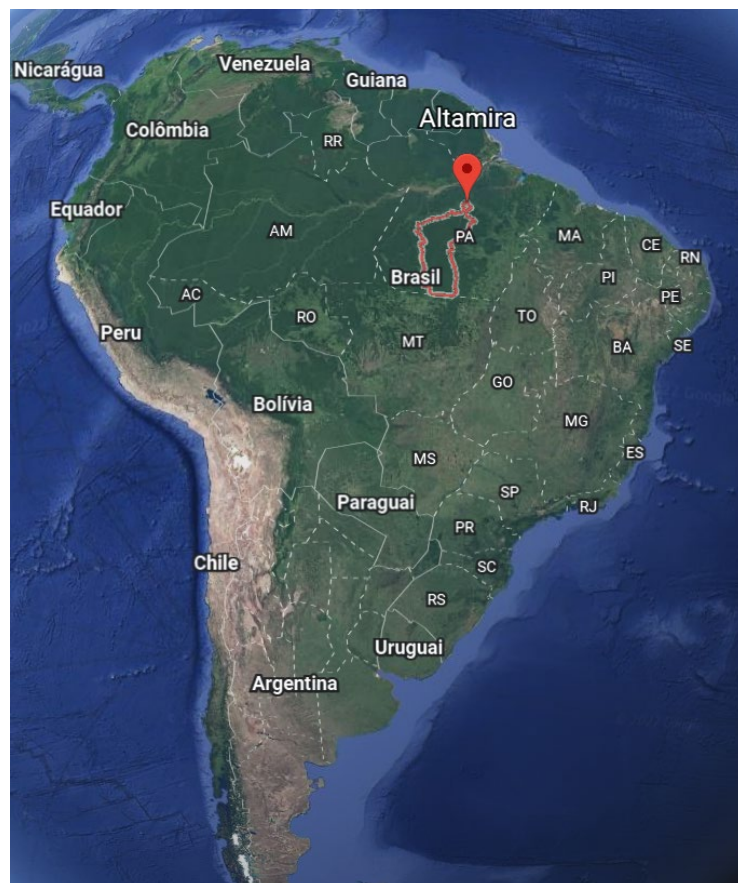
micronutrientes por meio da utilização das suas vagens e sementes. Portanto, dada as evidências sobre as características do fruto da *LF* bem como os seus benefícios, o objetivo do estudo foi avaliar as características nutricionais e de compostos bioativos de vagens e sementes dessa planta.

2. Metodologia

2.1. Amostras e extrações

Foram avaliadas as amostras de *LF* maduras adquirida em setembro de 2020 diretamente do município de Altamira-PA, Brasil, cuja longitude, latitude e altitude são respectivamente 3.20 °S, 52.21 °O, -297 m (Google Earth®, versão 9.162.0.2., 2022) (Figura 2).

Figura 2. Localização geográfica do município de Altamira – PA de onde foram adquiridos os frutos do Jucá.



Fonte: Google Earth. Versão 9.162.0.2. (2022).

As vagens com sementes da *LF* foram higienizadas e secas em temperatura ambiente para ser então acondicionada em sacos plásticos, livre de luz, umidade e calor para posteriores análises. Todas as análises foram executadas no laboratório de análise de alimentos e no laboratório de bromatologia da Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), localizada em Presidente Prudente, Estado de São Paulo, Brasil.

Utilizou-se as vagens com as sementes, ambas trituradas juntas em macro moinho do tipo Willey, modelo MA340 (Marconi®, Piracicaba-SP, Brasil) para obter o seu pó. Buscou-se na literatura estudos sobre o uso do chá da *LF* (Brasil, 2019, Macedo et al., 2020; Holanda et al., 2021) tais concentrações foram testadas, porém, para realizar as

análises de compostos bioativos e potencial antioxidante, a diluição que possibilitou a realização das análises diante das curvas de calibração para avaliação de composição antioxidante estão relatadas a seguir: o pó foi submetido a uma extração alcoólica por meio da diluição de 5 gramas do pó de *LF* em 25 mL de metanol 70%. A mistura permaneceu em repouso por 10 minutos e depois foi filtrada duas vezes utilizando papel filtro (Lenquiste et al., 2015; Holanda et al., 2021).

Considerando que a *LF* é popularmente utilizada na forma de chá, principalmente contendo as frações de vagem e sementes que preparadas dessa forma, conferem propriedades anti-inflamatórias e cicatrizante (Macêdo et al., 2020), foi também realizada uma extração por meio de infusão em água destilada, utilizando 10 gramas do pó de *LF* em 90 mL de água, obtendo uma concentração de 10% (p/v) sendo que essa mistura ficou em repouso por 15 minutos e foi filtrada apenas uma vez em papel filtro. As misturas alcoólicas e do chá foram cobertas, ficando em ambiente livre de luz e foram utilizadas nas análises químicas (Nakamura et al., 2002; Cavalheiro et al., 2009; Vasconcelos et al., 2011; Araújo et al., 2014; Lenquiste et al., 2015). O chá e o extrato foram preparados no momento das análises, que foram também realizadas em triplicata.

2.2. Caracterização química do Jucá

Após a moagem das vagens e sementes de *LF*, determinou-se o peso da matéria seca e o extrato etéreo que foram demonstrados em gramas por 100 gramas (g /100 g) da amostra (Galeriani & Cosmo, 2020). O teor de nutrientes foi obtido por meio do método de determinação de cinzas (método 945.46) e foram expressos de forma elementar, incluindo o Nitrogênio total, Fósforo, Potássio, Cálcio, Magnésio e Enxofre e os de micronutrientes que correspondem ao Boro, Cobre, Ferro, Manganês e zinco (Malavolta et al. 1997; Faquin, 2002). Foram determinados também o teor de proteínas pelo método de Kjeldhal (método 990.03) e fibra bruta (método 993.21) (Cunniff, 1995; Galeriani & Cosmo, 2020). A densidade energética foi determinada por meio de cálculo nutricional, considerando os seguintes valores energéticos: proteínas e carboidratos 4 Kcal/g; e lipídios 9 Kcal/g (Smith et al., 2007).

A concentração de fenólicos totais foi estimada segundo o método de Folin-Ciocalteu, baseado na reação colorimétrica de oxidação/redução dos fenóis. Os resultados foram calculados com base na curva de calibração de ácido gálico ($y = 0,0032 x + 0,0759$; $R^2 = 0,9967$) de 16 a 500 miligramas de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de amostra (Singleton & Rossi, 1965).

O conteúdo total de flavonoides foi determinado utilizando o método de Dowd adaptado, o qual se baseia na reação do cloreto de alumínio em uma solução de metanol. Foi utilizada uma curva padrão de catequina com quatro pontos de concentrações de 5 a 250 mg ($y = 0,006 x + 0,006$; $R^2 = 0,9936$). O conteúdo total de flavonoides foi expresso como mg de equivalentes de catequina por g de amostra (Arvouet-Grand et al., 1994).

O potencial antioxidante das amostras foi determinado pelo ensaio de FRAP, que mensuram o efeito do composto sobre um tipo de radical livre e processo oxidativo. A capacidade de redução do ferro (do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi mensurada *in vitro* pelo método descrito por Benzie e Strain (1996) utilizando-se as seguintes soluções: cloreto férrico 5,4% em água; ácido clorídrico (HCl) 40 mM; tampão acetato 0,3M; e 2,4,6-Tris (2-pyridil)-s-triazina (TPTZ) 10mM. A partir destas soluções é preparado o reagente FRAP (1:1:10 / TPTZ: FeCl₃: Tampão). Para o ensaio são pipetadas amostra, água destilada e reagente FRAP, na proporção de 1:3:30, os quais permanecem em banho-maria por 30 minutos a 37 °C e em seguida é feita a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 593 nm. A curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) foi preparada com concentrações de 31,25 a 1000 µmol TE ($y = 0,0014 x - 0,0108$; $R^2 = 0,9997$). O resultado foi expresso

em μM Trolox/g (atividade antioxidante equivalente ao Trolox). Os resultados obtidos após todas as análises serão demonstrados em tabelas e apresentados por meio de média \pm desvio padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1 Composição química

Os resultados de composição química encontram-se demonstrados na Tabela 1, na qual a *LF* apresentou elevado teor de matéria seca e proteínas, minerais e fibras.

Tabela 1. Composição química de vagens com sementes de *Libidibia ferrea*

| Análises | | Componentes | | | | |
|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|
| Composição Centesimal (g/100 g) | Matéria Seca | Extrato Etéreo | Matéria Mineral | Proteína Bruta | Fibra Bruta | Cinzas |
| | 88,57 \pm 0,69 | 0,24 \pm 0,01 | 3,17 \pm 0,06 | 7,31 \pm 0,21 | 15,25 \pm 0,4 | 24,6 \pm 3,18 |
| Composição Energética (Kcal/g) | Proteína | Carboidrato | Lipídio | Valor energético Total | | |
| | 29,22 \pm 0,82 ^a | 61,0 \pm 1,60 ^a | 2,16 \pm 0,09 ^b | 92,38 \pm 0,87 ^c | | |
| Micronutrientes (mg/100 g) | Boro | Cobre | Ferro | Manganês | Zinco | |
| | 2,57 \pm 0,15 | 0,57 \pm 0,16 | 11,87 \pm 2,14 | 4,93 \pm 0,45 | 2,03 \pm 0,07 | |
| Macronutrientes (g/100 g) | Nitrogênio Total | Fósforo | Potássio | Cálcio | Magnésio | Enxofre |
| | 1,03 \pm 0,00 | 0,12 \pm 0,01 | 1,10 \pm 0,14 | 0,22 \pm 0,03 | 0,07 \pm 0,01 | 0,09 \pm 0,01 |

Resultados expressos como média \pm desvio-padrão. Teor de nutrientes obtido por meio do método de determinação de cinzas (método 945.46). Teor de proteínas obtido pelo método de Kjeldhal (método 990.03) e fibra bruta (método 993.21). ^aValor médio de proteína bruta e de fibras multiplicado por 4 Kcal/g. ^b Valor do extrato etéreo multiplicado por 9 Kcal/g. ^c Somatória dos valores calóricos de proteínas, carboidratos e lipídios. Fonte: Autores (2022).

Ressalta-se que o conteúdo de uma planta pode variar de acordo com a época de colheita, das condições de solo e ambiente e para determiná-lo, podem ser utilizados diversos métodos de secagem para o conteúdo vegetal utilizado (Bueno et al., 2017).

A matéria seca é um parâmetro indicativo de qualidade, rigidez e até mesmo idade das plantas (Oliveira et al., 2015a; Oliveira et al., 2015b, Hirzel et al., 2018). Os valores médios obtidos de matéria seca corroboram com o estudo

de Souza, Nogueira & Rassini (2002) no qual avaliou-se amostras vegetais de solos, em que os resultados variaram entre 80 a 99%.

Em um estudo realizado com *LF* por Oliveira et al., 2015b eles relatam que a produção de matéria seca total se torna maior quando o solo é fertilizado com potássio, porém não se sabe se os frutos utilizados no presente estudo foram provenientes de solo com tratamentos específicos. Além disso, quando são utilizadas outras partes da planta exceto as folhagens, o teor de matéria seca tende a ficar mais elevado nos resultados das análises (Silva et al., 2015), fato este que ocorreu no presente estudo, pois foi avaliado o pó obtido de vagens com as sementes de *LF*.

Dentre as plantas da caatinga analisadas por Silva et al. (2015) inclui-se a composição de *LF*, no qual o teor de matéria seca foi superior a 35%, proteína bruta de 13,98%, extrato etéreo de 4,25%, matéria mineral de 5,92% e fibras sendo 54,59% da fibra em detergente neutro e 29,85% da fibra em detergente ácido. Considera-se dessa forma que na análise do fruto realizada no presente estudo, foi obtido um elevado teor de matéria seca, baixo teor de lipídios, valor mais elevado de proteína bruta e menor teor de fibra. Há indícios de que a fibra da *LF* seja de baixa digestibilidade (Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, 2018).

Silva et al. (2015) relatam ainda que plantas do tipo leguminosas arbóreas provenientes da caatinga podem ser utilizadas até mesmo como silagens devido ao seu excelente teor proteico, como é o caso da *LF*. Inclusive, o Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade (2018) relata que normalmente é obtido um valor de proteína na *LF* entre os valores de 6,8 a 8,4% sendo que o nível de corte para proteína bruta é de 7% (Milford & Minson, 1966), o que realmente permite considerá-la um vegetal com elevada composição proteica. Seus níveis de cálcio podem variar entre 0,18 a 0,28%, corroborando com os resultados encontrados na análise química do presente estudo.

As cinzas obtidas nas análises correspondem ao teor de minerais do vegetal. Dessa forma, os valores encontrados no presente estudo foram muito superiores ao encontrado no estudo de Grisi et al. (2021), elucidando assim, o elevado teor de minerais da *LF*.

A elevada concentração de carboidratos dessa planta provavelmente se deve aos locais onde ela se desenvolve, sendo locais que recebem incidência elevada de luz solar, favorecendo a essa característica na sua composição devido à ocorrência intensa de fotossíntese, o que causa o acúmulo de carbono e nitrogênio de forma excessiva no vegetal conforme demonstrado por Grisi et al. (2021), estudo que também identificou o valor energético total do pó dos frutos da *LF* que foi de aproximadamente 386,07 Kcal para cada 100 gramas, valor esse que diferiu grandemente daqueles obtidos no presente estudo, porém mesmo assim, os carboidratos foram os componentes que prevaleceram em ambos os estudos, seguido das proteínas e por último, os lipídios.

Dentre as características sensoriais do jucá destaca-se o seu sabor amargo o que pode dificultar o uso em sua forma in natura. Esse sabor pode ser atribuído ao seu caráter adstringente devido a elevada composição de taninos (Prazeres et al., 2019). Diante desse fato, sugere-se que o uso da *LF* seja empregado como ingrediente adicional em preparações como chás ou até mesmo como um nutracêutico em cápsulas e assim a *LF* poderia ser inserida como parte de uma dieta equilibrada com a finalidade de fornecer seus compostos bioativos além de nutrientes conforme demonstrado na composição de minerais desse vegetal.

Alguns autores verificaram a toxicidade da planta por meio do uso de extratos alcoólicos em suas pesquisas. Nesses estudos, utilizaram as vagens, casca do caule e sementes (Ferreira et al., 2019; Oliveira et al., 2020; Pickler et al., 2019). Não foram encontrados na literatura, estudos que verificaram toxicidade desta planta por meio do emprego do chá da *LF*.

3.2 Determinação de compostos fenólicos, flavonóides e antioxidantes.

Os resultados sobre a composição de compostos fenólicos, fitoquímicos e antioxidantes da *LF* encontram-se expressos na Tabela 2.

Tabela 2. Caracterização da composição de compostos fenólicos, flavonoides e potencial antioxidante da *Libidibia ferrea*

| Compostos Bioativos | | | |
|----------------------|---|--|--|
| Preparação | Compostos fenólicos Totais (mg GAE /g ⁻¹) | Flavonoides (mg Catequina /g ⁻¹) | Antioxidantes (µM Trolox g ⁻¹) |
| Extrato Aquoso (chá) | 12,22 ± 1,04 | 4,63 ± 0,76 | 48,29 ± 5,5 |
| Extrato metanólico | 142,74 ± 16,59 | 33,89 ± 4,63 | 520,87 ± 57,52 |

Dados apresentados como média ± desvio-padrão. O extrato metanólico apresenta a caracterização da *Libidibia ferrea*. Fenólicos totais são expressos como equivalente de mg de ácido gálico por 100 gramas, método *Follin-Ciocalteu*. Flavonoides totais são expressos como equivalente de mg de pirocatequina por grama. Capacidade antioxidante (FRAP) é expressa como µM Trolox por grama. Fonte: Autores (2022)

O chá da amostra analisada apresentou baixo conteúdo de compostos fenólicos totais conforme evidenciado por Vasco et al. (2008) em seu estudo no qual avaliaram frutas (manga, maracujá, naranjilla, tomate, entre outras) da região do Equador, porém dentre as frutas avaliadas não haviam leguminosas. Vale lembrar que os frutos da *LF* pertencem à família das plantas leguminosas, e que esse tipo de vegetal apresenta em sua composição substâncias antinutricionais chamados de inibidores de enzimas proteolíticas, essas substâncias são termosensíveis e podem ser destruídas no momento do preparo do chá (Câmara et al., 2008; Benevides et al., 2011), tal fator pode ter influenciado na baixa concentração de alguns componentes do chá, dentre eles, os taninos, que são compostos fenólicos que se ligam a proteínas (Monteiro et al., 2005).

Porém, no estudo de Prazeres et al. (2019) o valor de compostos fenólicos obtido na *LF* foi de 951,39 ± 0,01 mg GAE/g, valor superior ao obtido no presente estudo e na pesquisa de Grisi et al. (2020) o valor foi de 219,75 ± 0,10 mg GAE/g, demonstrando assim uma variabilidade nos valores obtidos de compostos fenólicos totais de *LF*.

Awan et al. (2018) relatam que essa variabilidade em valores de compostos fenólicos pode ser encontrada devido às condições a que a planta é exposta tais como a resistência contra patógenos. O filo, ordem, família e variação das espécies, grau de acesso à luminosidade de raios do tipo ultravioleta B estimulam a produção de compostos fenólicos na planta, e devido a esses fatores pode haver variações quanti-qualitativa nas amostras coletadas (Degáspari & Waszczyński, 2004).

Os compostos fenólicos se formam nas plantas por meio de um estímulo devido a situações de estresse, de forma que na natureza podem ser encontrados por volta de 5 mil tipos desses compostos que incluem as classes de tocoferóis, taninos flavonoides, fenóis simples, cumarinas, ligninas e ácidos fenólicos (Souza et al., 2018).

Plantas que possuem taninos comumente apresentam propriedades adstringentes associadas à capacidade que uma substância vegetal possui para levar a precipitação de proteínas, como aquelas encontradas no sangue, bactérias, parasitas e enzimas. Há também a função de sequestro de radicais livres e de efeito antioxidante associada à presença de taninos nos vegetais de forma que tais fatores podem favorecer a cicatrização, atividade antimicrobiana, entre outras funções (Kobayashi et al., 2015).

Dentre os compostos fenólicos da *LF* foram elucidados por Venâncio et al. (2021) a presença de ácido gálico, ácido ferúlico, ácido serínico e ácido clorogênico. A *LF* apresenta em sua composição fitoquímica os flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, esteróis e compostos fenólicos (Lima et al., 2012) conforme evidenciado também por Pickler et al. (2019) no qual foi demonstrado que as sementes dessa planta possuem quantidade de ácido elágico em até 3 vezes mais do que em suas cascas.

O conteúdo de flavonoides obtido nesse estudo foi inferior ao encontrado nas análises realizadas por Prazeres et al. (2019) que foi de 35,35 mg expressos em equivalente de quercetina/g⁻¹ e que também elucidam que os flavonoides são substâncias com características variadas e que protegem os vegetais de radiação ultravioleta e fitopatógenos. Foram encontrados poucos dados na literatura sobre o conteúdo de flavonoides referente a análise de extrato aquoso ou de chá de *LF*.

Luna et al. (2020) encontraram presença de flavonoides em quatro tipos de extratos alcoólicos de folhas de *LF*. Cerca de 28% de estruturas de flavonoides são produzidas por plantas leguminosas (Hegnauer & Gpayer-Barkmeijer, 1993) como é o caso da *LF* e o teor desse componente pode ser intensificado no vegetal por meio de radiação ionizante, que pode elevar os níveis de taninos, flavonoides, entre outros componentes (Maia-Neto et al., 2020). Essa poderia ser uma alternativa para que os resultados do presente estudo se tornassem superiores aos obtidos no momento, porém essa intervenção não foi realizada.

Quanto aos antioxidantes avaliados por meio do método FRAP, foram encontrados poucos relatos na literatura sobre a análise de chá ou extrato aquoso de *LF* para esse método e acredita-se que realmente essa planta contenha níveis satisfatórios de taninos, pois ao realizar o ensaio FRAP, utilizou-se cloreto de ferro, que dá origem a uma solução de tom azulado e segundo Monteiro et al., (2005), os taninos são facilmente oxidáveis, reagindo com o cloreto de ferro, o que leva ao escurecimento das soluções, fato este observado no presente estudo, onde o azul obtido foi de uma tonalidade intensa, quase preto, o que comprova a atividade antioxidante por meio do sequestro de radicais livres (Kobayashi et al., 2015).

Apesar desse fato, no estudo de Azevedo et al. (2020), obtiveram melhores resultados por meio de extração de antioxidantes em extrato etanólico aquoso. Já no estudo de Grisi et al. (2021), obtiveram valores superiores, de aproximadamente 315 mmol FE₂SO₄/g se comparado a quantidade de antioxidantes encontrada no presente estudo. Falcão et al. (2019) verificaram que a *LF* possui atividade antioxidante importante, de forma que houve o aumento total nos níveis de glutatona, uma enzima que atua gerando um tipo de defesa no organismo, no grupo de ratos que receberam *LF*.

4. Conclusão

As análises de vagens e sementes de *LF* indicaram que há uma maior concentração de compostos fenólicos, flavonoides e antioxidantes no extrato metanólico da planta, porém, mesmo com uma menor concentração desses compostos no chá, essa forma de preparação da *LF* é mais fácil de ser consumida pela população do que o seu extrato. Devido ao seu teor proteico, de minerais e fibras, a *LF* poderia ser utilizada para beneficiar a nutrição humana como uma forma de enriquecer alimentos e preparações.

Referências

- Araújo, A. A., Soares, L. A. L., Ferreira, M. R. A., Souza Neto, M. A., Silva, G. R., Araújo Jr, R. F., Guerra, G. C. B. & Melo, M.C.N. (2014). Quantification of polyphenols and evaluation of antimicrobial, analgesic and anti-inflammatory activities of aqueous and acetone-water extracts of *Libidibia ferrea*, *Parapiptadenia rigida* and *Psidium guajava*. *Journal of Ethnopharmacology*, 156, 88-96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.031>
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, U., & Legret, P. (1994). Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *Journal of Pharmacie Belgique*, 49 (6), 462-468. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7884635/>
- Azevedo, L. F. C., Ferreira, T. A. A., Melo, K. M., Dias, C. L. P., Bastos, C. E. M. C., Santos, S. F., Santos, A. S., Nagamachi, C. T., & Pieczarka, J. C. (2020). Aqueous Ethanol extract of *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul) L.P. Queiroz (juca) exhibits antioxidant and migration-inhibiting activity in human gastric adenocarcinoma (ACP01) cells. *Plos One*, 16 (9), e0257134. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226979>
- Awan, Z. A., Shoaib, A., & Khan K. A. (2018). Variations in total phenolics and antioxidant enzymes cause phenotypic variability and differential resistant response in tomato genotypes against early blight disease. *Scientia Horticulturae*, 239, 216-223. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.044>
- Beltreschi, L., Lima, R. B., & Cruz, D. D. (2019). Traditional botanical knowledge of medicinal plants in a “quilombola” community in the Atlantic Forest in northeastern Brazil. *Environment Development and Sustainability*, 21, 1185-1203. <https://doi.org/10.1007/s10668-017-0079-6>
- Benevides, C. M. J., Souza, M. V., Souza, R. D. B., & Lopes, M. V. (2011). *Segurança alimentar e nutricional*, 18 (2), 67-79. <https://doi.org/10.20396/san.v18i2.8634679>
- Benzie, I. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1), 70-76. 10.1006/abio.1996.0292.
- Bueno, A. V. I., Jobim, C. C., Ribeiro, M. G., & Oliveira J. P (2017). Método de obtenção de matéria seca e composição química de volumosos. *Ciência animal Brasileira*, 18 (e-44913), 1-8. doi: 10.1590/1089-6891v18e-44913
- Caballero-Serrano, V., McLaren, B., Carrasco, J. C., Alday, J. G., Fiallos, L., Amigo, J., & Onaindia, M. (2019). Traditional ecological knowledge and medicinal plant diversity in Ecuadorian Amazon home gardens. *Global Ecology and Conservation*, 17, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00524>
- Câmara, F. A. A., Torres, S. B., Guimarães, I. P., Oliveira, M. K. T., & Oliveira, F. A. (2008). Biometria de frutos e sementes e superação de dormência de Jucá *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul (LEGUMINOSAE-CAESALPINOIDEAE). *Revista Caatinga*, 21 (4), 172-178. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=237117689026>
- Cavalheiro, M. G., Farias, D. F., Fernandes, G. S., Nunes, E. P., Cavalcanti, F. S., Vasconcelos, I. M., Melo, V. M. M., & Carvalho, A. F. U. (2009). Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19 (2B), 586-591. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400014>
- Coelho, M. F. B., Cavalcante Neto, M. H., Barbosa, M. K. R., Oliveira, M. C., & Lima, A. K. B. L. (2013). Superação da dormência em sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ec Tul. var. *ferrea* de duas populações. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. 8 (4), 179-182. <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/2307>
- Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. (2019). *Departamento de Apoio Técnico e Educação Permanente*. Comissão Assessora de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Plantas Medicinais e Fitoterápicos. São Paulo – SP: Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. <http://www.crfsp.org.br/comissoes/565-plantas-medicinais-e-fitoterapicos/acoef/8467-cartilha-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos.html>
- Cunha, A. P., Ribeiro, A. C. B., Ricardo, N. M. P. S., Oliveira, A. C., Dávila, L. S. P., Cardoso, J. H. L., Rodrigues, D. C., Azeredo, H. M. C., Silva, L. M. A., Brito, E. S., Mendes Filho, J., Rocha, T. M., Leal, L. K. A. M., & Ricardo, N. M. P. S. (2016). Polysaccharides from *Caesalpinia ferrea* seeds – Chemical characterization and anti-diabetic effects in Wistar rats. *Food Hydrocolloids*, 65, 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.039>
- Cunniff, P. (1995). Official methods of analysis of AOAC international. *Association of Official Analytical Chemists*, 16. <https://www.worldcat.org/pt/title/official-methods-of-analysis-of-aoac-international/oclc/421897987>
- Degáspari, C. H. & Waszczynskyj, N. (2004). Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*, 5 (1), 33-40. <https://doi.org/10.5380/acd.v5i1.540>

- Di Stasi, L. C. & Hiruma-Lima, C. A. (2002). Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. São Paulo: 54. UNESP, 2002. <http://editoraunesp.com.br/catalogo/8571394113,plantas-medicinais-na-amazonia-e-na-mata-atlantica-2-edicao>
- Emmi, D.T., Melo, F. O. B., & Araújo, M. V. A. (2021). Saber popular e conhecimento científico na comercialização de plantas medicinais para saúde bucal. *Fitos*, 15 (4), 482-493. <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2021.1119>
- Falcão, T. R., Araújo, A. A., Soares, L. A. L., Farias, I. B., Silva, W. A. V., Ferreira, M. R. A., Araújo Jr., R. F., Medeiros, J. S., Lopes, M. L. D. S., & Guerra, G. C. B. (2019). *Libidibia ferrea* fruit crude extract and fractions show anti-inflammatory, antioxidant, and antinociceptive effect *in vivo* and increase cell viability *in vitro*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2019/6064805>
- Faquin, V. (2002). Diagnóstico do estado nutricional das plantas. Lavras: UFLA/FAEPE. 77p.
- Ferreira, D. Q., Ferraz, T. O., Araújo, R. S., Cruz, R. A. S., Fernandes, C. P., Souza, G. C., Ortiz, B. L. S., Sarquis, R. S. F. R., Miranda, J. C. M. M., Garrett, R., Carvalho, J. C. T., & Oliveira, A. E. M. F. M. (2019). *Libidibia ferrea* (jucá), a traditional anti-inflammatory: a study of acute toxicity in adult and embryos zebrafish (*Danio rerio*). *Pharmaceuticals*, 12 (175), 1-15. 10.3390/ph12040175
- Ferreira, M. R. A. & Soares, L. A. L. (2015). *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz: a review of the biological activities and phytochemical composition. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9 (2), 140-150. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170594>
- Food and Drug Administration. (2010). Nutritional Labeling and Education Act (NLEA) Requirements (8/94-2/95). Revised 2010.
- Forzza, R. C., Leitman, P. M., Costa, A., Carvalho Jr., A. A., Peixoto, A. L., Walter, B. M. T., Bicudo, C., Zappi, D., Costa, D. P., Lleras, E., Martinelli, G., Lima, H. C., Prado, J., Stehmann, J. R., Baumgratz, J. F. A., Pirani, J. R., Sylvestre, L. S., Maia, L. C., Lohmann, L. G., ... Souza, V.C. (2010). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. 2. ed. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/36157>
- Freitas, A. C. C., Ximenes, N. C. A., Aguiar, J. S., Nascimento, S. C., Lins, T. U. L., Magalhães, L. R., Coelho, L. C. B. B., Carneiro da Cunha, M. G., & Gonçalves-Silva, T. (2012). Biological activities of *Libidibia* (Caesalpinia) *ferrea* var. *parvifolia* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz pod preparations. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/514134>
- Gagnon, E., Lewis, G. P., Sotuyo, J. S., Hughes, C. E., & Bruneau, A. (2013). A molecular phylogeny of *Caesalpinia* *sensu lato*: increased sampling reveals new insights and more general than expected. *South African Journal Botany*, 89, 111-127. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.07.027>
- Galeriani, T. M. & Cosmo, B.M.N. (2020). Métodos de determinação de extrato etéreo, proteína bruta e fibra em detergente neutro. *Revista Agronomia Brasileira*, 4, 1-9. <https://doi.org/10.29372/rab202010>
- Gouveia, G. D. A. & Simionato, C. (2019). Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências da Saúde. Núcleo Telessaúde Santa Catarina. Plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica. Florianópolis – SC.
- Grisi, C. V. B., Cordeiro, A. M. T. M., Vieira, A. F., Rocha, A. P. T., & Araújo, G. T. (2021). Nutritional, anti-nutritional and technological functionality of flour from *Libidibia ferrea*. *Revista Principia*, S.I. (53), 206-217. <http://dx.doi.org/10.18265/1517-0306a2020v1n53p206-217>
- Grisi, C. V. B., Cordeiro, A. M. T. M., Nascimento, M. K. G., Franca, S. A. M., Freire, S. M. M., Albuquerque, C. L. C., Marques, A. S., & Araújo, G. T. (2020). Potencial antioxidante e estabilidade do bioaditivo de jucá (*Libidibia ferrea*). *Research, Society and Development*, 9 (7), 1-19. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.5224>
- Güven, B., Can, M., Piskin, O., Aydın, B. G., Karakaya, K., Elmas, O., & Acikgoz, B. (2019). Flavonoids protect colon against radiation induced colitis. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 104, 128-132. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.03.006>
- Hegnauer, R. & J. Gpayer-Barkmeijer, R. (1993). Relevância dos polissacarídeos e flavonoides das sementes para a classificação das leguminosas: Uma abordagem quimiotaxonomica. *Phytochemistry*, 34 (1), 3-16. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)90776-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)90776-3)
- Holanda, B. F., Araújo, D. F., Silva, J. N., Pereira, M. G., Pires, A. F., & Assreuy, A. M. S. (2020). Polysaccharide-rich extract of *Caesalpinia ferrea* stem barks attenuates mice acute inflammation induced by zymosan: oxidative stress modulation. *Journal of Ethnopharmacology*, 267, 113501. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113501>
- Hirzel, J., Rojas, J., Sepúlveda, D. Rojas, S., & Radrigán, R. (2018). ¿Existe relación entre firmeza y contenido de materia seca en frutos de arándano? *Ciências Agronômicas*, 32 (18), 20-25. <http://hdl.handle.net/2133/13752>
- Kobayashi, Y. T. S., Almeida, V. T., Bandeira, T., Alcântara, B. N., Silva, A. S. B., Barbosa, W. L. R., Silva, P. B., Monteiro, M. V. B., & Almeida, M. B. (2015). Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 52 (1), 34-40. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v52i1p34-40>
- Lenquiste, S. A., Marineli, R. S., Moraes, E. A., Dionísio, A. P., Brito, E. S., & Maróstica Jr., M. R. (2015). Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows *in vitro* and *in vivo* antioxidant properties in obesity model. *Food Research International*, 77 (2), 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>
- Lima, M. J. S., Freitas, T. P., Oliveira, R. S., Rolim, L. A., Rolim Neto, P. J., Maia, M. B. S., & Silva, R. M. F. (2020). Desenvolvimento tecnológico de cápsulas à base de *Libidibia ferrea* para terapia anti hiperglicemiante. *Brazilian Journal of Development*, 6 (12), 95271-95288. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n12-131>

- Luna, M. S. M., Paula, R. A., Costa, B., Anjos, J. V., Silva, M. V., & Correia, M. T. S. (2020). Bioprospection of *Libidibia ferrea* var. *Ferrea*: phytochemical properties and antibacterial activity. *South African Journal of Botany*, 130, 103-108. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.12.013>
- Macêdo, N. S., Silveira, Z. S., Bezerra, A. H., Costa, J. G. M., Coutinho, H. D. M., Romano, B., Capasso, R., Cunha, F. A. B., & Silva, M. V. (2020). *Caesalpinia ferrea* C. Mart. (Fabaceae) Phytochemistry, Ethnobotany, and Bioactives: A Review. *Molecules*, 25 (3831), 1-33. <https://doi.org/10.3390/molecules25173831>
- Maia-Neto, L. S., Amaral, A., Lucena, L. R. F., Magnata, S. S. L. P., Silva, E. B., Maciel Netto, A., Oliveira, A. F. M., & Souza, I. A. (2020). Gamma irradiation for enhancing active chemical compounds in leaf extracts of *Libidibia ferrea* (Leguminosae). *Applied Radiation and Isotopes*, 166. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2020.109306>
- Malavolta, E., Vitti, G. C., & Oliveira, S. A. (1997). Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS. 319p.
- Milford, R. & Minson, D.J. (1966). Intake of tropical pasture species. In: Proceedings of the 9th International Grassland Congress, São Paulo, Brazil, 1964, 815-822.
- Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade. (2018). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial*. Plantas para o futuro: região nordeste. Biodiversidade. Brasília – DF: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1073295/especies-nativas-da-flora-brasileira-de-valor-economico-atual-ou-potencial-plantas-para-o-futuro-regiao-centro-oeste>
- Ministério da Saúde. (2009). *Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos*. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Brasília – DF: Ministério da Saúde. <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnmpf/ppnmpf>
- Monteiro, J. M., Albuquerque, U. P., & Araújo, E. L. (2005). Taninos: uma abordagem química à ecologia. *Química nova*, 28 (5), 892-896. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>
- Nakamura, E. S., Kurosaki, F., Arisawa, M., Mukainaka, T., Okuda, M., Tokuda, H., Nishino, H., & Pastore Jr., F. (2002). Cancer chemopreventive effects of constituents of *Caesalpinia ferrea* and related compounds. *Cancer Letters*, 177 (2), 119-124. [https://doi.org/10.1016/s0304-3835\(01\)00708-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(01)00708-x)
- Nawwar, M. A., Hussein, S. A., El-Mousallami, A. M., Hashim, A. N., Mousa, M. A., Hetta, M. H., Hamed, M. A., Werner, V., Becker, A., Haertel, B., & Lindequist, U. (2015). Phenolics from *Caesalpinia ferrea* Mart.: antioxidant, cytotoxic and hypolipidemic activity. *Pharmazie*, 70 (8), 553-558. <https://doi.org/10.1691/ph.2015.5526>
- Oliveira, A. F., Batista, J. S., Paiva, E. S., Silva, A. E., Farias, Y. J. M. D., Damasceno, C. A. R., Brito, P. D., Queiroz, S. A. C., Rodrigues, C. M. F., & Freitas, C. I. A. (2010). Avaliação da atividade cicatrizante do Jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. Var. *Ferrea*) em lesões cutâneas de caprinos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 12 (3), 302-310. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000300007>
- Oliveira, F. G. & Fernando, E. M. P. *Libidibia. Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB109836>
- Oliveira, J. S., Miranda, J. E. C., Carneiro, J. C., D'Oliveira, P. S., & Magalhães, V. M. A. (2015a). Como medir a matéria seca (MS%) em forragem utilizando forno de micro-ondas. Embrapa. Comunicado Técnico (77): 1-6. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1034878/como-medir-a-materia-seca-ms-em-forragem-utilizando-forno-de-micro-ondas>
- Oliveira, L. P., Freitas, R. M. O., Leite, M. S., Pinto, J. R. S., Nogueira, N. W., & Leite, T. S. (2015b). Desenvolvimento inicial de mudas de jucá (*Caesalpinia ferrea*) sob influência da adubação potássica. XXX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo: 1-3.
- Oliveira, P. G., Gomes, L. S. S., Venâncio, G. N., Lima, E. S., Souza, T. P., Bandeira, M. F. C. L., Toda, C., & Conde, N. C. O. (2021). Citotoxicidade de uma formulação em orabase de *Libidibia ferrea*. *Research, Society and Development*, 10 (10), 1-8. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18713>
- Palheta, I. C., Tavares-Martins, A. C. C., Lucas, F. C. A., & Jardim, M. A. G. (2017). Ethnobotanical study of medicinal plants in urban home gardens in the city of Abaetetuba, Pará state, Brazil. *Blacpma*, 16 (3), 206-262. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85650470002>
- Pickler, T. B., Lopes, K. P., Magalhães, S. A., Krueger, C. M. A., Martins, M. M., Cechinel Filho, V., Jozala, A. F., Grotto, D., & Gerenutti, M. (2019). Effect of *Libidibia ferrea* bark and seed in maternal reproductive and biochemical outcomes and fetal anomaly in rats. *Birth Defects Research*, 111 (13), 863-871. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1520>
- Prazeres, L. D. K. Y., Aragão, T. P., Samara, A. B., Almeida, C. L. F., Silva, A. D., Paula, M. M. F., Farias, J. S., Vieira, L. D., Damasceno, B. P. G. L., Rolim, L. A., Veras, B. O., Rocha, I. G., Silva Neto, J. C., Bittencourt, M. L. F., Gonçalves, R. C. R., Kitagawa, R. R., & Wanderley, A. G. (2019). Antioxidant and antiulcerogenic activity of the dry extract of pods of *Libidibia ferrea* Mart. Ex Tul. (Fabaceae). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019,1-24. <https://doi.org/10.1155/2019/1983137>
- Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT – Food Science and Technology*, 40 (1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023>
- Ramires, A. C. S., Lameira, O. A., Souza, I. N. G., Portal, R. K. V., & Campelo, M. F. (2019). Avaliação fenológica do Jucá (*Libidibia ferrea*) Martius ex Tul. (Fabaceae). Embrapa Amazônia Oriental: 23º seminário – PIBIC 2019. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1113330/avaliacao-fenologica-do-juca-libidibia-ferrea-martius-ex-tul-fabaceae>

- Rodrigues, M. S., Rosário, R. G. A., Costa, M. V., Alves, E. S. F., & Gomes, M. A. F. (2021). Estudo comparativo entre conhecimento popular e científico de plantas medicinais de espécies da família fabaceae. *Extensão Rural: práticas e pesquisas para o fortalecimento da agricultura*. 1 ed., 2 v. 10.37885/978-65-87196-99-2
- Saliba, E. O. S., Rodriguez, N. M., Morais, S. A. L., & Piló-Veloso, D. (2001). Ligninas – Métodos de obtenção e caracterização química. *Ciência Rural*, 31 (5), 917-928. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782001000500031>
- Santos, M. O., Ribeiro, D. A., Macêdo, D. G., Macêdo, M. J. F., Macedo, J. G. F., Lacerda, M. N. S., Macêdo, M. S., & Souza, M. M. A. (2018). Medicinal plants: versatility and concordance of use in the caatinga area, Northeastern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90 (3), 2767-2779. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170594>
- Silva, R. M., Cardoso, A. D., Dutra, F. V., & Morais, O. M. (2017). Aspectos biométricos de frutos e sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul. Provenientes do semiárido baiano. *Revista de Agricultura Neotropical*, 4 (3), 86-91. <https://doi.org/10.32404/rean.v4i3.1427>
- Silva, M. D. A., Carneiro, M. S. S., Pinto, A. P., Pompeu, R. C. F. F., Silva, D. S., Coutinho, M. J. F., & Fontenele, R. M. (2015). Avaliação da composição químico-bromatológica das silagens de forrageiras lenhosas do semiárido brasileiro. *Semina: Ciências Agrárias*, 36 (1), 571-578. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n1p571>
- Singleton, V. L. & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. Davis, v. 16, p. 144-158. [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrjct55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1483529](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrjct55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1483529)
- Smith, C., Marks, A. D., & Lieberman, M. (2007). *Bioquímica médica de Marks*. Porto Alegre, RS. Editora Artmed, 2 ed.
- Sousa, I. J. O., Araújo, S., Negreiros, P. S., França, A. R. S., Rosa, G. S., Negreiros, F. S., & Gonçalves, R. L. G. (2017). A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. *Revista Uningá Review*, 31 (1), 33-59. <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/2048>
- Souza, G. B., Nogueira, A. R. A., & Rassini, J. B. (2002). Determinação de matéria seca e umidade em solos e plantas com forno de microondas doméstico. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa - Circular técnica (33). <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/46448/determinacao-de-materia-seca-e-umidade-em-solos-e-plantas-com-forno-de-microondas-domestico>
- Souza, A. V., Vieira, M. R. S., & Putti, F. F. (2018). Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21 (e2917103), 1-6. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.10317>
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111 (4), 816-823. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>
- Vasconcelos, C. F. B., Maranhão, H. M. L., Batista, T. M., Carneiro, E. M., Ferreira, F., Costa, J., Soares, L. A. L., Sá, M. D. C., Souza, T. P., & Wanderley, A. G. (2011). Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 137 (3), 1533-1541. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.08.059>
- Venâncio, G. N., Bridi, E. C., Teixeira, L. N., Basting, R. T., Sousa, I. M. O., França, F. M. G., Amaral, F. L. B., Turssi, C. P., & Basting, R. T. (2021). Phenolic extract of *Libidibia ferrea* inhibits dentin endogenous enzymatic activity depending on the adhesive system strategy. *Microscopy Research and Technique*, 85 (1), 270-282. <https://doi.org/10.1002/jemt.23902>
- Wyrepkowski, C. C., Costa, D. L. M. G., Sinhorin, A. P., Vilegas, W., Grandis, R. A., Resende, F. A., Varanda, E. A., & Santos, L. C. (2014). Characterization and quantification of the compounds of the ethanolic extract from *Caesalpinia ferrea* stem bark and evaluation of their mutagenic activity. *Molecules*, 19 (10), 16039-16057. <https://doi.org/10.3390/molecules19101603>

1 **ARTIGO B- CHÁ DE VAGENS COM SEMENTES DE *LIBIDIBIA FERREA* (JUCÁ) NÃO**
2 **ATENUA REAÇÃO INFLAMATÓRIA CAUSADA POR COLITE DISTAL INFLAMATÓRIA**
3 **NÃO INFECCIOSA INDUZIDA EM RATOS**

4
5
6 **Highlights:**

- 7 • O Jucá não causou hepatotoxicidade.
8 • A relação albumina/globulina dos animais que consumiram Jucá indicou pior prognóstico da
9 doença.
10 • O Jucá gerou hiperemia e aderências.
11 • Houve inflamação aguda com infiltrado neutrofílico em todos os grupos com colite.
12 • As placas de Peyer no cólon indicam metaplasia nos animais com colite.

13
14
15 **Chá de vagens com sementes de *Libidibia ferrea* (Jucá) não atenua reação inflamatória**
16 **causada por colite distal inflamatória não infecciosa induzida em ratos**

17
18 Marcela A. B. Fagiani^{a,b}, Ana P. M. Andrade^a, Anna C. P. Pereira^b, Arthur S. Zulli^b, Bianca M. E.
19 Estopa^b, Breno L. G. Rosa^b, Fabíola A. Mello^b, Gracielle V. Gonçalves^c, Isabella B. Ferreira^a,
20 Liliane G. Pereira^a, Sandra C. Genaro^b, Cecília L. Santarém^a, Sabrina A. Lenquiste^b.

21
22 ^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência Animal, UNOESTE, Presidente Prudente, SP, Brasil;

23 ^bGraduação em Nutrição, UNOESTE, Presidente Prudente, SP, Brasil. ^cBiotério Experimental,
24 Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente, SP, Brasil.

25
26 Contato: Marcela A. B. Fagiani. E-mail: marcelafagiani16@gmail.com. Programa de Pós-Graduação em
27 Ciência Animal, UNOESTE, Presidente Prudente, SP, Brasil.

28 **Resumo**

29

30 **Objetivo:** avaliar os efeitos do chá de vagens com sementes do Jucá para o tratamento curativo em
31 ratos com colite. **Métodos:** Foram utilizados 40 ratos *Wistar* machos, divididos em 4 grupos
32 (n=10/grupo): controle (animais saudáveis), controle colite (colite induzida), controle droga
33 (recebendo sulfassalazina (300 mg kg⁻¹/dia, por gavagem oral, durante 7 dias) e grupo jucá
34 (receberam uma dose do fruto de 285mg/Kg/dia de jucá na forma de chá, via gavagem, durante 7
35 dias). O chá foi preparado por meio de infusão. Foi determinado o índice de atividade da doença,
36 escore de dano macroscópico do intestino grosso, análises histopatológicas do intestino grosso,
37 exames bioquímicos e de mensuração de antioxidação. **Resultados:** o grupo que recebeu o chá do
38 jucá reduziu o consumo de água e ração (p<0,0001), apresentou maior índice de atividade da
39 doença no dia 1 (p<0,0001) e no dia 7 (p=0,004). Todos os animais com colite apresentaram
40 hiperemia (p=0,001) e aderência de órgãos (p<0,0001). A relação albumina/globulina foi menor nos
41 animais que consumiram o chá (p<0,001) e a ALT (p=0,04) e o peso do fígado (p=0,001) estavam
42 elevados nos animais com sulfassalazina. **Conclusão:** A reação inflamatória causada pela colite foi
43 de característica aguda. Houve aumento de hiperemia intestinal, infiltração neutrofílica, aderência e
44 metaplasia nos animais com colite. A relação albumina/globulina indicou piora no desfecho da
45 colite dos ratos com Jucá e o uso da sulfassalazina gerou toxicidade hepática.

46 **Palavras-chave:** Plantas medicinais; Antioxidantes; Inflamação; Intestino grosso; Diarreia.

47 **Introdução**

48

49 Na população ocidental há um consumo importante de dietas ricas em gordura, carboidratos
50 simples, e com baixo teor de fibras, o que pode ser considerado fator de risco para inflamação
51 intestinal. Além disso, o uso de aditivos alimentares contribuem para o adoecimento intestinal.
52 Portadores de obesidade e diabetes tipo 2 também podem ter maiores chances de desenvolver
53 doenças intestinais [1,2].

54 As inflamações agudas são caracterizadas por uma resposta fisiológica a uma lesão ou
55 infecção [3] fazendo com que mediadores inflamatórios promovam a migração de neutrófilos e
56 macrófagos para a área inflamada, o que levará à produção de citocinas pró-inflamatórias, proteínas
57 de fase aguda e quimiocinas, gerando os sintomas clínicos da inflamação no indivíduo como dor
58 abdominal, diarreia com aumento na frequência de evacuações, tenesmo, sangramento retal, e a
59 colite propriamente dita [1,4,5,6]. Acredita-se que a fase aguda dura em média 6 semanas e se não
60 for solucionada, essa inflamação passa a ser considerada crônica [7].

61 Dentre as doenças inflamatórias agudas que podem acometer o Intestino Grosso (IG) inclui-
62 se a síndrome do intestino irritável, diverticulite e alguns tipos de colite. Já as inflamações crônicas
63 incluem a Doença de Crohn e a Retocolite Ulcerativa [8].

64 A colite pode causar má absorção de nutrientes, levando a carências nutricionais
65 relacionadas a alguns nutrientes como ferro, magnésio, ácido fólico, cálcio, vitamina D e vitamina
66 B12 [9,10]. A desidratação pode ocorrer tanto na colite aguda como nos casos crônicos. A
67 desnutrição proteico-calórica costuma afetar mais os indivíduos que desenvolvem as formas
68 crônicas da doença. Essas complicações causadas pela colite podem dificultar a recuperação do
69 paciente [11].

70 A terapia da colite geralmente envolve mudanças alimentares devendo excluir ou incluir
71 alguns alimentos na dieta a fim de modular a resposta inflamatória do trato gastrointestinal à
72 inflamação [12]. O uso de medicamentos pode e deve ser indicado no tratamento, tais como anti
73 inflamatórios, imunossuppressores e antibióticos que podem causar diversos efeitos colaterais, tais
74 como náuseas, vômitos, dispepsia e diminuição do consumo alimentar [11].

75 A fitoterapia para o tratamento de doenças inflamatórias intestinais (DII) é evidenciado na
76 literatura com a finalidade de reduzir a inflamação e trazer menos efeitos colaterais [13]. Os
77 benefícios dessas plantas são atribuídos ao teor de antioxidantes classificados entre os flavonóides,
78 alcalóides e terpenóides, funcionam como medicamentos naturais que geralmente possuem baixa
79 toxicidade, reduzindo o estresse oxidativo produzido em um organismo [14,15].

80 Apesar dos benefícios deve-se ter cautela com o uso da fitoterapia para o tratamento de
81 doenças, pois algumas plantas podem apresentar toxicidade, sendo desaconselhadas dependendo do

82 tratamento, dosagem, forma de preparo e de aplicação, inclusive em caso de gestação ou em uso
83 concomitante com demais medicamentos ou plantas [16].

84 Sabe-se que na região da caatinga do Brasil há uma diversidade de plantas com propriedades
85 medicinais, dentre elas, destaca-se a *Libidibia ferrea* (LF) (Jucá) devido à sua atividade anti
86 inflamatória, cicatrizante, antifúngica, antiúlcero-gênica e antibacteriana [17]. O Jucá pode ser
87 consumido na forma de chá, decocções, infusões, xaropes, macerações e pomadas [15, 17, 18, 19],
88 entretanto, não há estudos sobre sua aplicação em estudo de modelos animais sobre a colite aguda.

89 Em um trabalho desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa, avaliou-se a composição
90 nutricional e de compostos bioativos do extrato metanólico e aquoso do Jucá, o qual apresentou
91 nutrientes como Ferro ($11,87 \pm 2,14$), Manganês ($4,93 \pm 0,45$), Zinco ($2,03 \pm 0,07$), Fósforo ($0,12 \pm$
92 $0,01$), Potássio ($1,10 \pm 0,14$), Cálcio ($0,22 \pm 0,03$), Magnésio ($0,07 \pm 0,01$), proteína bruta ($7,31 \pm$
93 $0,21$), fibra bruta ($15,25 \pm 0,4$), composição energética total ($92,38 \pm 0,87$ Kcal/g), além de
94 compostos fenólicos no chá ($12,22 \pm 1,04$), flavonoides ($4,63 \pm 0,76$) e antioxidantes ($48,29 \pm 5,5$)
95 [20].

96 Devido às propriedades terapêuticas evidenciadas na literatura sobre o consumo do Jucá de
97 diversas formas e perante os dados demonstrados na pesquisa da composição nutricional das vagens
98 com sementes dessa planta, caberia investigar sua aplicabilidade sobre as reações inflamatórias
99 geradas pela colite, a fim de verificar a possibilidade de uso de um produto natural para o
100 tratamento dessa doença.

101 Diante do exposto, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do chá de vagens com
102 sementes do Jucá sobre a inflamação química intestinal em um modelo de indução de retocolite
103 ulcerativa em ratos.

104

105 **Métodos**

106

107 O protocolo experimental foi aprovado em 2021 pela Comissão de Ética no Uso de Animais
108 da Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), Presidente Prudente, SP, Brasil, protocolo de número
109 7342, seguindo os critérios de recomendações do Conselho Nacional de Controle de
110 Experimentação Animal (CONCEA) [21], *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of*
111 *the Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* [22] e
112 diretrizes ARRIVE [23].

113 ***Delineamento Experimental***

114

115 Foram utilizados 40 *Rattus norvegicus* da linhagem *Wistar*, machos, jovens adultos (12
 116 semanas), distribuídos randomicamente em 4 grupos de 10 animais por grupo, pesando
 117 aproximadamente $333,23 \pm 17,58$ g, provenientes do biotério da Unoeste, os quais foram mantidos
 118 2 ratos/gaiola de prolipropileno, forradas com maravalha, em ambiente controlado com fotoperíodo
 119 de 12/12 horas e temperatura ambiente de aproximadamente $23 \pm 2^\circ\text{C}$ [21,22]. A oferta de água e
 120 ração seguiram as exigências nutricionais segundo as recomendações do National Research Council
 121 (NRC) [24]. O Grupo Colite Jucá (GCJ) recebeu o chá de vagens com sementes do Jucá
 122 diariamente. As vagens com sementes do Jucá foram adquiridas em feira livre do município de
 123 Altamira – PA e a partir da moagem das vagens, obteve-se um pó da planta que foi utilizado para o
 124 preparo do chá. O chá era preparado por meio de infusão, de forma que a água era aquecida até a
 125 temperatura de 80°C , os 10 gramas do pó era adicionado à 90mL de água e depois de 10 minutos
 126 em infusão Holanda et al., 2021) [25,19], foi filtrado em papel próprio para então realizar as
 127 gavagens. Cada rato recebeu a dosagem de aproximadamente 285mg/Kg/dia de jucá, considerada
 128 uma dose intermediária segundo o estudo de Falcão et al. [26]. O delineamento experimental está
 129 demonstrado na Figura 1.

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

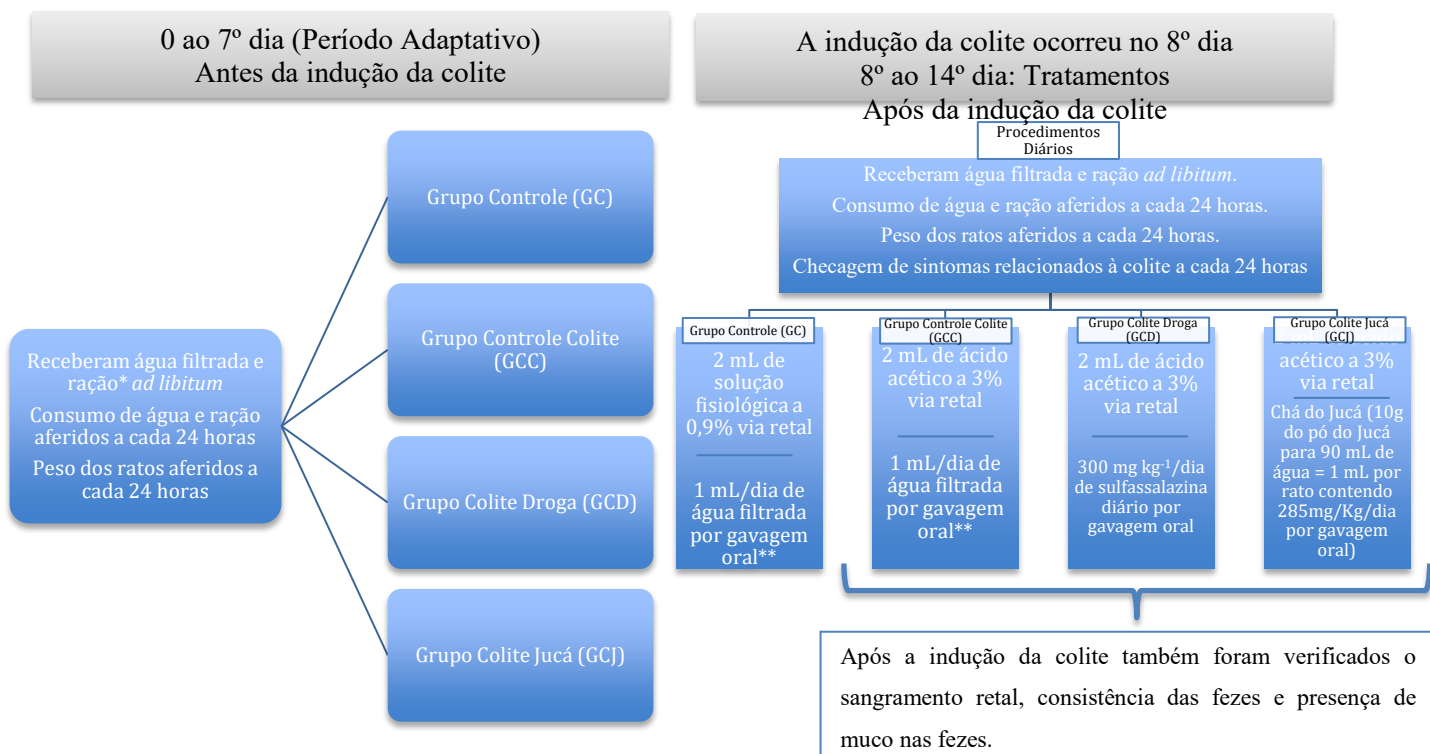
141

142

143

144

145



146

147

148

149

150

Figura 1. Detalhamento sobre os procedimentos experimentais antes e após a indução da colite

Legenda: *Ração comercial balanceada para roedores (Supralab[®] produzido por Alisul, Rio Grande do Sul, Brasil).

**Ratos receberam 1mL/dia de água filtrada por gavagem oral para simular o estresse da gavagem sofrido pelos ratos dos demais grupos experimentais. No GC também foi simulado o estresse da indução da colite com 2mL de solução fisiológica a 0,9% via retal. A colite foi induzida em uma única vez.

151

152 *Protocolo de Indução da Colite*

153

154 Antes de iniciar a indução da colite os ratos foram anestesiados e a colite foi induzida a
155 partir de algumas adaptações diante dos métodos referidos por Sepehrimanesh et al. [27], de forma
156 que cada animal foi submetido ao jejum alimentar de 24 horas para o preparo mecânico dos cólons
157 para indução da colite por meio de enemas de solução (2 mL de ácido acético a 3%) em dose única
158 e em um único dia. Foi utilizada uma cânula de polipropileno contendo 2 mm de diâmetro inserida
159 no reto e que se estendeu até o cólon distal, colocada a 8 cm proximal à borda do ânus.

160 Após o posicionamento da cânula foi injetado o conteúdo de 2 mL de ácido acético a 3%
161 sob anestesia. Os ratos foram mantidos em posição supina de Trendelenburg por 30 segundos para
162 evitar o vazamento precoce do instilado intra-colônico e para que ocorresse adequadamente a colite
163 [28].

164

165 *Índice de atividade da doença (IAD) e escore de consistência das fezes*

166

167 Para determinar o índice de atividade da doença (IAD) considerou-se a perda de peso, o
168 sangramento retal e a consistência das fezes que classifica o rato em um escore proposto por
169 Camuesco et al., [29] e essa avaliação foi realizada em todos os dias de administração dos
170 tratamentos.

171 A avaliação da consistência das fezes foi realizada de acordo com o estudo de Kerr et al.,
172 [30] de acordo com a seguinte pontuação: (1) fezes de cor pálida, muco visível, consistência macia
173 e material fecal aderido à região perianal; (2) fezes com textura e formato anormal; (3) fezes
174 líquidas e (4) presença de sangue visível nas fezes. Cada rato recebeu uma pontuação e o escore
175 total de danos do grupo foi igual a soma de todos os animais do grupo.

176

177 *Eutanásia, coleta dos órgãos e do sangue*

178

179 Ao final do período experimental de e após jejum alimentar de 12 horas, os ratos foram
180 anestesiados com Cloridrato de Cetamina (Cetamin[®], Syntec, Brasil) (75 mg/Kg de peso) na
181 concentração de 100mg/mL associado ao Cloridrato de Xilazina (Xilazin[®], Syntec, Brasil) (10
182 mg/Kg de peso) na concentração de 20 mg/mL via intraperitoneal [31].

183 A colheita de sangue se deu após toracotomia e punção cardíaca inserindo o sangue em
184 tubos à vácuo com EDTA e sem anticoagulante (Vacuette[®], Greiner BioOne, SP, Brasil). O sangue
185 foi centrifugado a 2000 rpm por 20 minutos para separação de plasma e soro que foram utilizados

186 nas análises bioquímicas. O plano anestésico foi aprofundado, verificou-se os sinais indicativos de
187 morte [32] e então realizou-se a colheita do intestino grosso, baço e fígado que foram armazenados
188 em formol 10% durante 24 horas.

189

190 ***Escore de dano macroscópico, peso e comprimento do cólon***

191 O intestino grosso foi coletado desde o ceco até o reto de forma que o órgão foi aberto
192 longitudinalmente e avaliado quanto ao dano visível de acordo com os critérios propostos por
193 Sánchez-Hidalgo et al. [33], atribuindo os valores conforme as características visíveis do cólon, da
194 seguinte maneira: cólon normal (0), hiperemia localizada sem úlceras (1), ulceração sem hiperemia
195 ou espessamento da parede intestinal (2), ulceração com um ponto de inflamação (3), dois ou mais
196 pontos de ulceração e inflamação (4), zonas com grandes danos, inflamação e ulceração com uma
197 extensão > 1 cm (5), zonas com grandes danos e extensão > 2 cm; adiciona-se 1 ponto, até 10, para
198 cada cm acometido (6-10). A presença de adesão (score 0-2) e/ou consistência das fezes (conteúdo
199 cecal) (score 0-1) foram avaliados de acordo com critérios de Bobin-Dubigeon et al. [34]. O
200 intestino grosso também foi medido para determinar o comprimento do cólon e foi calculada a
201 razão entre o peso e o comprimento do cólon.

202

203 ***Análises Histopatológicas, Escore de Danos Teciduais e Avaliação das Criptas Intestinais***

204

205 A porção distal do intestino grosso que estava em formol a 10% foi submetida a lavagens
206 crescentes em álcoois para desidratação, seguidos de lavagens em xilol por duas horas para
207 diafanização e então foram incluídos em parafina. Os blocos foram seccionados em micrótomo
208 (Microtome CUT5062 SLEE MAINZ, Munique, Alemanha) com espessura de 5 micrômetros (μm)
209 e corados com hematoxilina e eosina (HE), para avaliação histopatológica. A leitura das lâminas foi
210 realizada com fotomicroscópio óptico (Leica DM 2500M com câmera Leica DFC 295 acoplada),
211 em magnitudes de 100x e 400x.

212 As lâminas foram avaliadas seguindo os critérios propostos por Lima et al. [35], de acordo
213 com o seguinte escore para cada animal: (0) tecido normal, podendo conter ausência ou discreto
214 eritema e hiperemia, ausência de áreas de hemorragias, ulcerações e abscessos e tecido com
215 características indicativas de reepitelização; (1) presença moderada de eritema e hiperemia, ausência
216 de áreas de hemorragia, ulcerações ou abscessos; (2) presença de eritema e hiperemia grave,
217 hemorragias, pequenas ulcerações ou cicatrizes e ausência de abscessos; (3) eritema e hiperemia
218 graves, presença de áreas de hemorragias com ulcerações extensas e abscessos. Seguindo esses
219 critérios, ao final encontrou-se o escore total de danos, classificando os animais em escore 0 (sem

220 danos, 1 (danos leves), 2 (danos moderados) e ≥ 3 (danos teciduais graves). Também foram
221 pesquisados demais achados microscópicos relacionados a alterações morfológicas [36].

222 As imagens das lâminas foram fotografadas e analisadas utilizando o Software Image J
223 (versão 1.51, 2018) para determinar alterações no comprimento da linha sobre as criptas intestinais
224 entre os grupos experimentais. Foram aferidas a medida do comprimento de linha (μm) de 10
225 criptas intestinais por animal segundo o método proposto por Wilson et al. [37].

226 ***Análises Bioquímicas e Antioxidante do sangue***

227

228 Por meio do sangue coletado foram dosados os níveis de Aspartato Aminotransferase
229 (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Creatinina, Ureia, Proteínas Totais (PT), Albumina e
230 Globulinas utilizando equipamento automático Cobas C11 (Roche Diagnóstica, São Paulo, SP).

231 Avaliou-se a capacidade antioxidante por meio do método de determinação do Poder
232 Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP) conforme Benzie & Strain [38] e Firuzi et al., [39]
233 utilizando 40 mM de HCl, 300 mM de Tampão de Acetato com pH de 3,6 e 10 mM 2,4,6-Tripiridil-
234 S-Triazina (TPTZ) em 40 mM de HCl, 20 mM de Cloreto de Ferro e a Solução coquetel utilizando
235 a técnica de Keep on Ice. As amostras foram submetidas a avaliação do comprimento de onda de
236 593 nm para medir a absorbância por meio de espectrofotômetro. A curva padrão de Trolox (6-
237 hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) foi preparada com concentrações de 31,25 a
238 1000 $\mu\text{mol TE}$ ($y = 0,0014x - 0,0108$; $R^2 = 0,9997$). O resultado está expresso em $\mu\text{mol TE}$
239 (atividade antioxidante equivalente ao Trolox).

240

241 ***Análise Estatística***

242

243 Para os resultados referente ao consumo de água, consumo de ração, diferença entre os
244 pesos dos ratos, lesão macroscópica do cólon, presença de aderência de órgãos, escore de diarreia,
245 análise das criptas intestinais, da histopatologia do intestino, IAD, resultados bioquímicos e FRAP,
246 aplicou-se o teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov* e então realizou-se o teste de *Levene* para
247 verificar sua homogeneidade. Na análise do IAD também foi aplicado o teste de *Games-Howell*
248 para comparações múltiplas. As variáveis não-paramétricas foram submetidas ao teste de *Kruskal-*
249 *Wallis* [40].

250 As análises de variância foram realizadas utilizando ANOVA seguida pelo pós-teste de *Tukey*
251 HSD para os resultados que apresentaram distribuição não paramétrica. Aplicou-se o teste de qui-
252 quadrado para comparações entre classes de variáveis para os dados de aderência de órgãos, escore
253 de diarreia e lesão macroscópica do cólon [40].

254 Os dados do protocolo experimental foram expressos em média, desvio-padrão e
 255 porcentagens. Todas as análises foram realizadas por meio do software estatístico Statistical
 256 Package for the Social Sciences (SPSS) - Pacote Estatístico para as Ciências Sociais, versão 23. O
 257 nível de significância adotado foi de 5%.

258 Resultados

259

260 Antes da indução da colite, os ratos já apresentaram diferenças no consumo de ração, de
 261 forma que os ratos com colite sem tratamento consumiram mais ração do que o grupo controle sem
 262 tratamento e que o consumo de ração dos animais que receberam chá do Jucá foi menor do que o
 263 consumo dos animais com colite sem tratamento e daqueles com colite em uso de sulfassalazina
 264 ($p < 0,0001$). Já para o consumo de água, não houveram diferenças significativas antes da indução da
 265 colite, porém após a colite os animais que tomaram o chá do Jucá consumiram menor quantidade de
 266 água do que os demais animais com colite ($p = 0,001$). Para os pesos antes e após indução não
 267 houveram diferenças significativas ($p = 0,45$) (Tabela 1).

268

269 Tabela 1

270 Peso corporal, consumo de água e de ração antes e após a indução da colite entre os grupos
 271 experimentais.

272

| Grupos Experimentais | Peso Corporal (g) | | Consumo de Água (mL) | | Consumo de Ração (g) | |
|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | Antes da Indução da Colite | Depois da Indução da Colite | Antes da Indução da Colite | Depois da Indução da Colite* | Antes da Indução da Colite* | Depois da Indução da Colite* |
| Grupo Controle (GC) | 349,03±20,09 | 351,95±17,72 | 59,74±2,52 | 51,86±4,63 ^{AC} | 27,54±2,86 ^a | 27,42±1,18 ^a |
| Grupo Controle Colite (GCC) | 351,67±17,35 | 351,95±17,72 | 63,71±4,97 | 58,38±9,24 ^{ab} | 31,09±2,97 ^b | 22,83±4,32 ^b |
| Grupo Colite Droga (GCD) | 348,41±15,54 | 368,61±25,91 | 58,75±5,39 | 58,31±8,30 ^{ab} | 29,69±1,58 ^{ab} | 21,55±3,04 ^b |
| Grupo Colite Jucá (GCJ) | 356,68±33,52 | 368,98±26,79 | 58,29±3,24 | 44,04±7,35 ^C | 26,21±2,02 ^a | 20,38±5,60 ^b |

273 As diferenças entre os pesos foram analisadas pelo teste de Tukey HSD, para o consumo de água e ração que
 274 correspondem entre os períodos de antes da indução da colite e após a indução da colite, utilizou-se o teste de

275 Kolmogorov-Smirnov e Tukey HSD. Letras diferentes (a,b,c) e asterisco (*) indicam diferenças estatísticas entre os
276 grupos ($p<0,05$).

277

278 Na avaliação do IAD houve significância estatística para as lesões e entre os grupos nos dias
279 1 ($p<0,0001$), 4 ($p<0,0001$), 6 ($p<0,0001$) e 7 ($p=0,004$). Nos dias 2 ($p=0,018$) e 3 ($p=0,044$) as
280 significâncias foram obtidas somente de acordo com o IAD e no dia 5 não houve significância
281 (Tabela 2). Os ratos do grupo controle não apresentavam lesões intestinais, mas tiveram uma perda
282 de peso maior no dia 7 (6,36%).

283

284 Tabela 2

285 Mensuração do índice de atividade da doença (IAD) entre os dias após indução da colite.

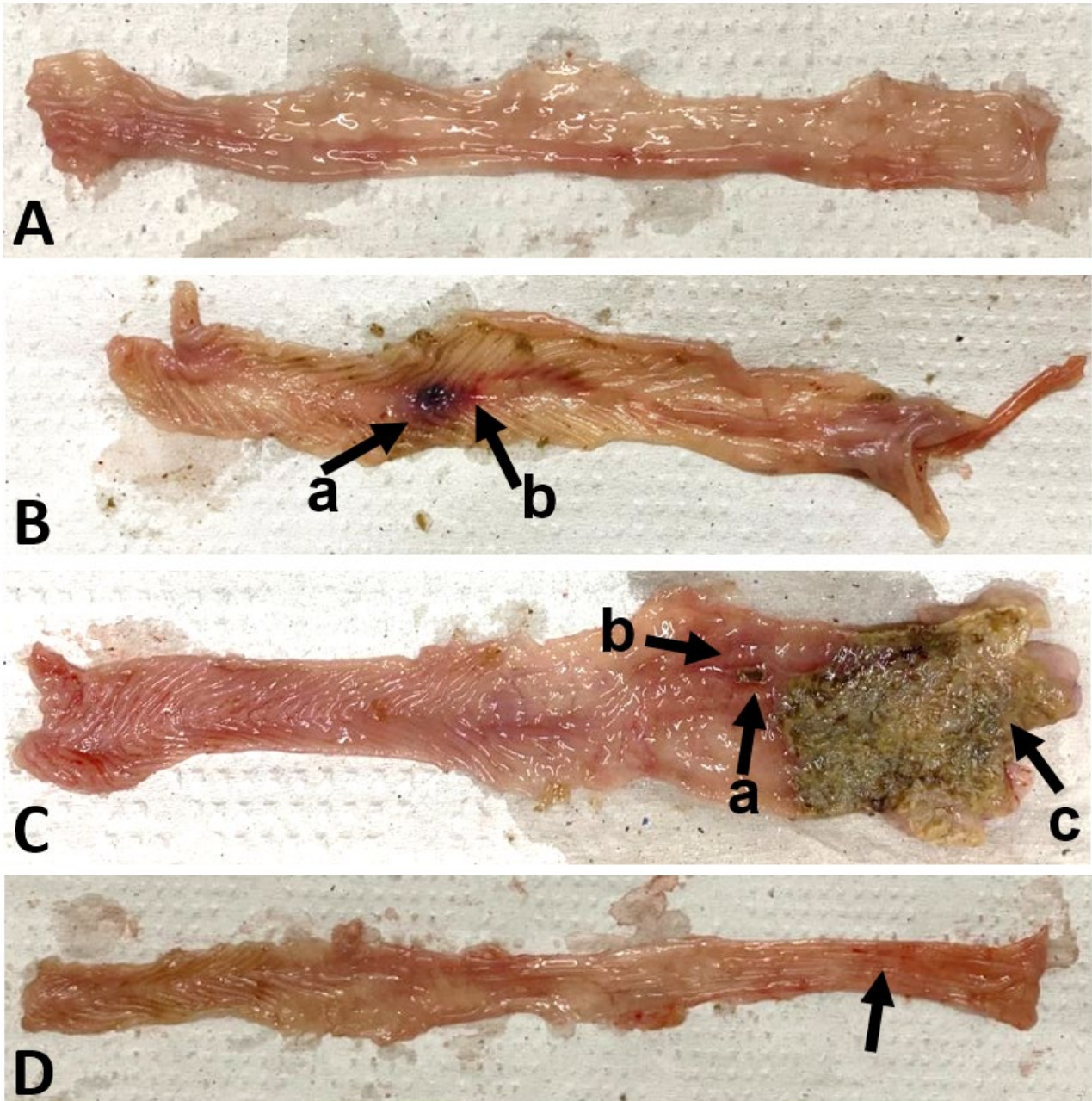
| Índice de Atividade da Doença | Grupos Experimentais | | | | p-Valor |
|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------|
| | Grupo Controle (GC) | Grupo Controle Colite (GCC) | Grupo Colite Droga (GCD) | Grupo Colite Jucá (GCJ) | |
| Dia 1 | 1,08±0,59 ^a | 0,22±0,4 ^b | 0,34±0,61 ^a | 2,92±2,54 ^a | $p<0,0001^*$ |
| Dia 2 | 0,54±0,9 | 2,54±2,37 | 2,43±2,07 | 0,79±0,63 | 0,018* |
| Dia 3 | 0,59±1,13 | 0,55±0,41 | 0,53±0,31 | 1,68±1,53 | 0,044* |
| Dia 4 | 1,94±1,43 ^a | 0,04±0,11 ^b | 0,03±0,11 ^b | 1,16±1,01 ^a | $p<0,0001^*$ |
| Dia 5 | 0,01±0,02 | 0,96±2,64 | 0,68±1,91 | 1,15±1,85 | 0,553 |
| Dia 6 | 0,00±0,00 ^a | 1,26±0,34 ^b | 1,33±0,95 ^b | 0,32±0,50 ^a | $p<0,0001^*$ |
| Dia 7 | 2,12±0,44 ^A | 0,30±0,34 ^B | 1,32±2,27 ^{ab} | 2,16±0,63 ^{ac} | 0,004* |

286

287 O Índice da Atividade da Doença (IAD) considera a perda de peso, consistência das fezes e o sangramento retal em
288 cada dia e é obtida uma média desses escores que resulta no IAD. Para esses dados aplicou-se a ANOVA seguida do
289 teste de Games-Howell. Letras diferentes (a,b,c) e asterisco (*) indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($p<0,05$).
290 Nos dias 2 e 3 detectou-se diferença para os valores obtidos no dia, mas não entre os grupos experimentais.

291

292 Houve diferença significativa entre os grupos experimentais para a lesão macroscópica do
293 cólon no critério hiperemia ($p=0,001$) e aderência dos órgãos ($p<0,0001$) (Figura 2). Os animais
294 sem colite estavam sem hiperemia (100%) e a hiperemia ocorreu nos animais com colite sem
295 tratamento (66,7%), bem como nos que receberam sulfassalazina (60%) e chá do jucá (66,7%). A
296 ulceração sem hiperemia ocorreu nos animais com colite sem tratamento (11,1%) e com
297 sulfassalazina (10%). Os animais sem colite não apresentaram aderência (100%), mas aqueles com
298 colite sem tratamento, sim (77,8%), seguidos dos que consumiram a sulfassalazina (10%) e chá do



299 jucá (22,2%). Não houve significância estatística entre os grupos para o escore de diarreia
 300 ($p=0,276$), peso do baço ($p=0,466$) e peso do cólon ($p=0,188$).

301

302

303 **Figura 2.** Dano macroscópico do intestino grosso.

304 Legenda: (A) Grupo Controle (GC): ausência de danos. (B) Grupo Controle Colite (GCC): Presença de ulceração (seta
 305 A) e hiperemia (seta B). (C) Grupo Colite Droga (GCD) Presença de Ulceração (seta A), Hiperemia (seta B), Dano
 306 extenso característico de necrose (seta C). (D) Grupo Colite Jucá (GCJ): Área de hiperemia.

307

308 Na avaliação microscópica do cólon foram observadas diferenças estatisticamente significativas
 309 entre os grupos para a análise da integridade das criptas intestinais ($p=0,001$) sendo que os animais

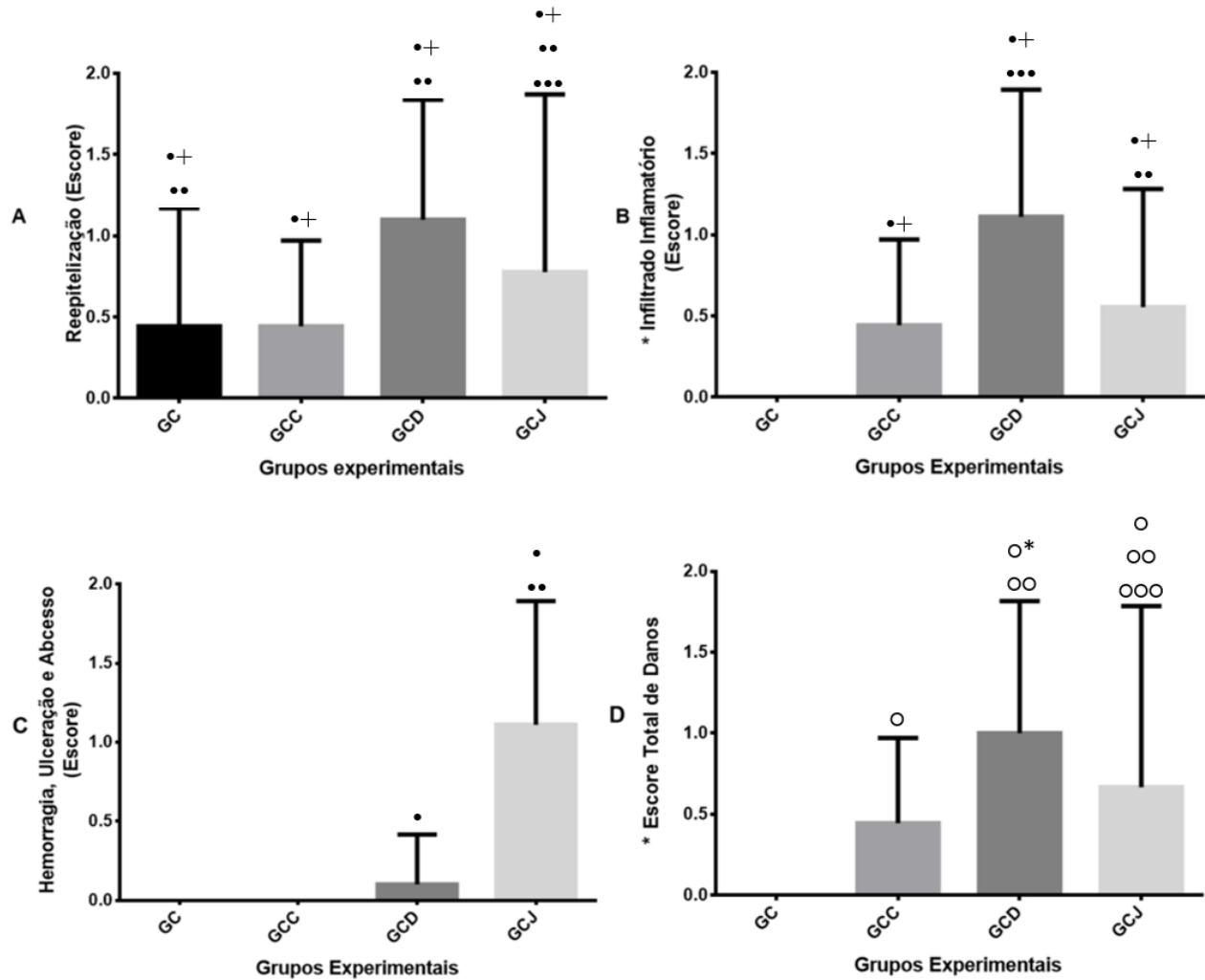
310 que consumiram o Jucá apresentaram maior comprimento das criptas ($245,02 \pm 63,52 \mu\text{m}$) seguido
311 dos animais com colite sem tratamento ($218,33 \pm 46,74 \mu\text{m}$) se comparado respectivamente ao
312 controle sem tratamento ($147,93 \pm 44,16 \mu\text{m}$), e aos que consumiram a sulfassalazina ($181,42 \pm 30,17$
313 μm).

314 Os grupos com colite apresentaram diferença significativa para inflamação ($p=0,005$), com
315 maior presença de infiltrado inflamatório nos ratos com sulfassalazina sendo que 50% apresentou
316 leve infiltrado inflamatório, seguido de 30% em quantidade moderada. Nos ratos com colite sem
317 tratamento, 44% apresentaram leve infiltrado inflamatório e os demais não apresentaram
318 quantidades médias de inflamação. Naqueles que receberam jucá, 33,3% apresentaram leve
319 inflamação, seguido de 11,1% com inflamação de grau moderado.

320 Para o escore total de danos também houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,017$),
321 sendo que os ratos que receberam jucá apresentaram menor escore de danos (66,7%) mas houve
322 escore de danos teciduais graves em 11,1% nesses animais, seguido daqueles que apresentavam
323 colite sem tratamento (55,6%) com escore de danos teciduais leves (44,4%) e por último, dos ratos
324 com sulfassalazina (30%), com escore de danos teciduais leves (40%) seguido de danos teciduais
325 em quantidade moderada (30%). Não houveram diferenças significativas para a reepitelização
326 ($p=0,246$), hemorragia ($p=0,442$) (Figura 3).

327 Os achados microscópicos indicaram presença de placas de Peyer no IG, porém não houveram
328 diferenças significativas entre os grupos ($p=0,256$).

329



330

331

332 **Figura 3.** Avaliação histopatológica das lesões do intestino grosso.

333 Legenda: Grupo Controle (GC). Grupo Controle Colite (GCC). Grupo Colite Droga (GCD). Grupo Colite Jucá (GCJ).

334 Asterisco (*) indicam diferenças estatísticas para as lesões avaliadas em cada grupo ($p < 0,05$). Para esses dados foram

335 utilizados os testes de Qui-quadrado, Kolmogorov-Smirnov e ANOVA. Símbolos nas figuras A, B, C e D indicam,

336 respectivamente a presença de alterações teciduais: A: (••) frequência média de reepitelização, (•••) frequência elevada

337 de reepitelização, (•+) maior frequência de pouca reepitelização. B: (••) moderada quantidade de infiltrado inflamatório,

338 (•••) grande quantidade de infiltrado inflamatório, (•+) maior frequência para pouca quantidade de infiltrado

339 inflamatório no grupo. C: (•) baixa ocorrência de hemorragia, ulcerações e abscessos, (••) moderada ocorrência de

340 hemorragia, ulcerações e abscessos. D: (○) escore lesional baixo, (○*) maior ocorrência de escore lesional baixo, (○○)

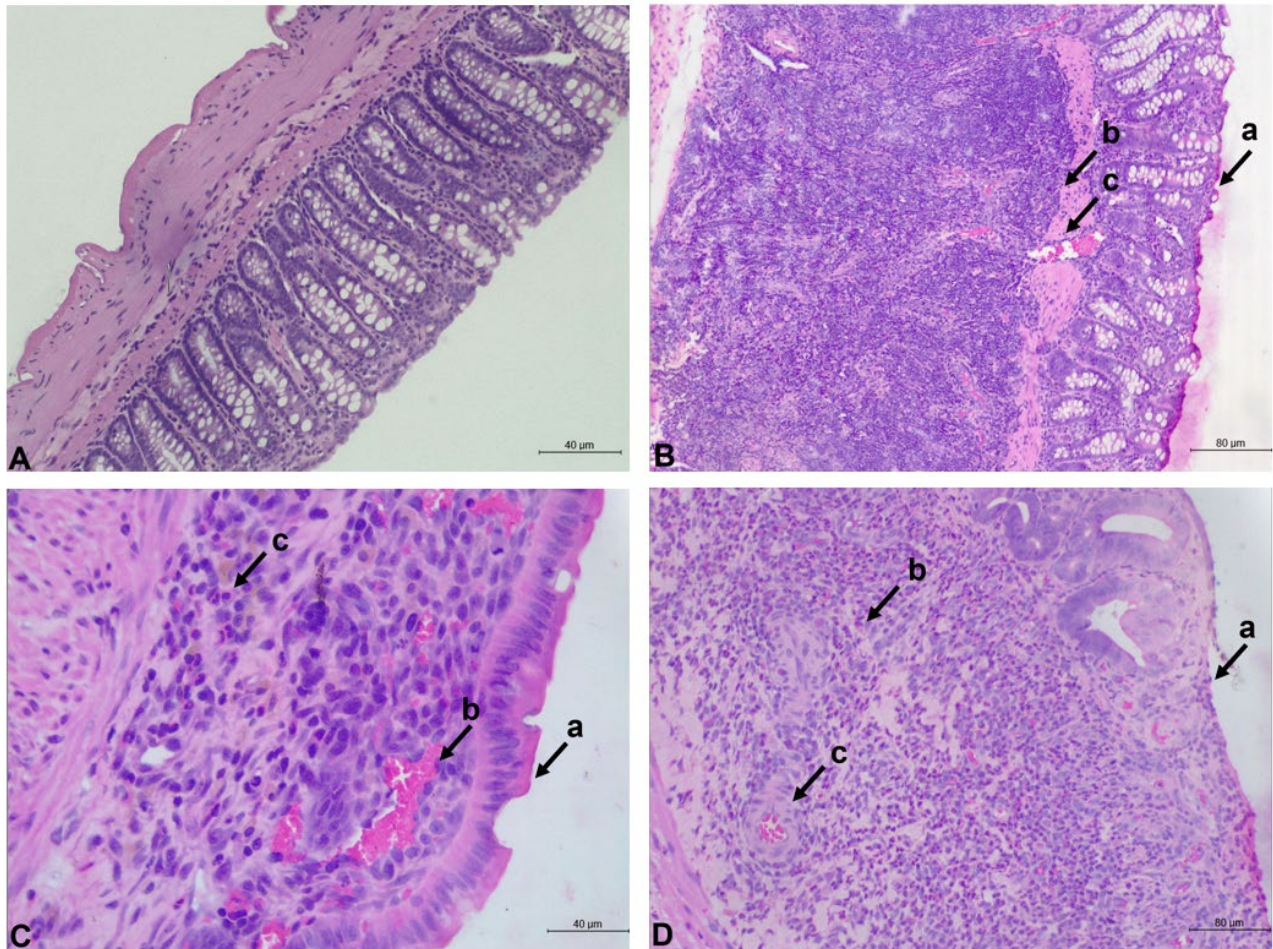
341 escore lesional moderado e (○○○) escore lesional elevado.

342

343 Na Figura 4 estão demonstradas as imagens das análises histopatológicas com as setas

344 apontando dilatação de vasos avaliado no critério reepitelização, infiltrado inflamatório e

345 integridade das vilosidades intestinais.



346

347 **Figura 4.** Análises histopatológicas do intestino grosso.

348 Legenda: (A) Grupo Controle (GC): sem alterações (200x). (B) Grupo Grupo Controle Colite (GCC): Seta A apontando
 349 vilosidade íntegra, Seta B apontando Placa de Peyer com agregado de linfócitos e Seta C apontando dilatação de vaso
 350 sanguíneo (400x). (C) Grupo Colite Droga (GCD): Seta A apontando ausência de vilosidades, Seta B apontando
 351 dilatação de vasos e Seta C apontando infiltrado neutrofílico (400x). (D). Grupo Colite Jucá (GCJ): Seta A apontando
 352 ausência de vilosidades, Seta B apontando neutrófilo e Seta C apontando dilatação de vaso (400x).

353

354 Os ratos do GC foram considerados referência para avaliação dos parâmetros bioquímicos
 355 entre os grupos, de forma que encontrou-se diferenças significativas entre os grupos experimentais
 356 para as dosagens de ALT (U/L) ($p=0,041$), estando seus níveis mais baixos nos animais que
 357 receberam sulfassalazina e mais elevados nos ratos que consumiram o chá do jucá e a albumina
 358 (g/dL) ($p<0,001$) estava mais baixa nos animais que consumiram a sulfassalazina e reduzida nos
 359 ratos que consumiram o chá do jucá (Tabela 3).

360 Também demonstraram-se estatisticamente significativos os dados de peso do fígado
 361 ($p=0,001$) com maior média de peso nos animais que receberam a sulfassalazina e o cálculo da
 362 relação albumina/globulina ($p<0,001$) com menor valor da relação nos animais que consumiram
 363 jucá e maior resultado naqueles que consumiram a sulfassalazina (Tabela 3).

364 **Tabela 3**

365

366 Avaliação bioquímica da função hepática, renal, proteínas plasmáticas e estresse oxidativo após
367 indução da colite e tratamento com sulfassalazina e Jucá.

368

| Parâmetros Avaliados | Grupos Experimentais | | | | <i>p</i> -Valor |
|-------------------------|----------------------|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------|
| | Grupo Controle (GC) | Grupo Controle Colite (GCC) | Grupo Colite Droga (GCD) | Grupo Colite Jucá (GCJ) | |
| ALT (U/L) | 38,58±5,10a | 34,5±13,33c | 49,13±8,66b | 38,86±16,06acb | 0,04* |
| AST (U/L) | 114,80±25,68 | 106,76±102,47 | 82,31±13,48 | 76,86±11,17 | 0,39 |
| Ureia (mg/dL) | 27,37±8,93 | 38,35±7,99 | 62,44±95,10 | 42,8±36,06 | 0,53 |
| Creatinina (mg/dL) | 0,27±0,05 | 0,32±0,04 | 0,31±0,57 | 0,37±0,19 | 0,20 |
| Proteínas totais (g/dL) | 6,00±0,63 | 5,9±5,97 | 6,16±0,20 | 6,21±0,27 | 0,59 |
| Albumina (g/dL) | 3,08±0,22ab | 3,92±0,45bc | 4,23±0,13bc | 2,91±0,24bc | 0,00* |
| Globulinas (g/dL) | 2,92±0,48 | 2,04±0,19 | 1,93±0,20 | 3,30±0,26 | 0,05 |
| Relação A/G (g/dL) | 1,05±0,46 | 1,92±2,37 | 2,19±0,65 | 0,88±0,92 | <0,001* |
| FRAP (mEq/Trolox) | 292,61±19,07 | 299,06±57,52 | 290,00±47,77 | 299,14±83,02 | 0,2 |
| Fígado (g) | 3,44 ± 0,19 | 3,96 ± 0,56 | 4,01 ± 0,35 | 3,41 ± 0,41 | 0,001* |

369 AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanino aminotransferase; FRAP: capacidade de redução do ferro plasmático;
370 relação A/G: albumina e globulinas. Letras diferentes (a,b,c) e asterisco (*) indicam diferenças estatísticas entre os
371 grupos ($p < 0,05$). Para esses dados, realizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, seguido de ANOVA, Kruskal-Wallis e
372 Teste de Tukey.

373 **Discussão**

374 Apesar de o Jucá ser uma planta com potencial antioxidante, cicatrizante e antiúlcero-gênica
375 [18], o consumo do chá dessa planta não foi capaz de produzir o efeito esperado para reduzir a
376 inflamação causada pela colite. Utilizou-se o chá do Jucá em ratos com colite devido a essa
377 preparação ser uma das formas populares de consumo da planta, tendo em vista que ela pode ser
378 adquirida diretamente da natureza em determinadas regiões do Brasil, bem como em feiras livres
379 [41].

380 Muitas plantas demandam ainda a realização de pesquisas para avaliar sua eficácia e
381 segurança na utilização para as mais diversas aplicações [42]. Pode ser que se aplicado de outra
382 forma, como por exemplo, via retal, por meio de enema ou supositório, os efeitos do consumo do
383 Jucá mostrariam resultados diferentes daqueles encontrados neste estudo.

384 Estudos evidenciaram efeitos tóxicos do Jucá sobre diversas aplicações, nos quais foram
385 utilizados o extrato hidroalcoólico de diversas partes da planta [43, 44, 45], mas nenhum dessas
386 pesquisas relacionou os efeitos tóxicos em modelos de indução de colite, e além do mais, não é
387 comum a utilização do Jucá na forma de extrato alcoólico pela população, sendo comumente
388 utilizado na forma de chá, xaropes, macerações e pomadas [19].

389 Segundo o parecer técnico nº 033/90 emitido por Brasil [42] no qual avaliaram o consumo
390 do chá das vagens do Jucá sobre uma utilização aguda e subaguda em ratos, não foram verificados
391 efeitos tóxicos diante da sua utilização, porém não foi relatada a dose utilizada, nem mesmo por
392 quanto tempo se utilizou o chá.

393 Buscou-se na literatura as doses do Jucá para chá de vagens comumente utilizadas nas
394 pesquisas com ratos, pois não foram encontradas recomendações específicas de doses para o uso de
395 vagens com as sementes trituradas juntas. Encontrou-se uma pesquisa sobre ação antiulcerogênica
396 do chá de vagens do Jucá na qual foi testada sua ação sobre indução de feridas gástricas com ácido
397 acético e as doses utilizadas do Jucá foram de 100, 200 e 400 mg/Kg [46]. A dose de 200 mg/Kg
398 reduziu a área de úlceras crônicas, e dessa forma, optou-se por utilizar uma dose intermediária para
399 verificar seus efeitos sobre os ratos com colite.

400 Os animais de todos os grupos com colite apresentaram redução no consumo de ração e
401 água, entretanto, os ratos que receberam o chá do jucá apresentaram um consumo menor ainda de
402 água. Tal fato pode ter sido influenciado pelo sabor amargo e adstringente do Jucá o que
403 provavelmente se deve à concentração de taninos e minerais nas vagens, dentre eles, o ferro [46, 17,
404 20]. O baixo consumo de líquidos pode impactar em desidratação principalmente quando
405 relacionado à colite, que causa diarreia, condição presente nesses animais.

406 Além do estresse causado pela manipulação dos animais, é importante considerar a injúria
407 causada pela colite, pois verificou-se nesses animais a presença de cromodaciorreia e mudanças no
408 apetite, o que influencia no consumo de água e alimentos. Os animais também apresentaram
409 alteração na coloração e consistência das fezes, reflexos lentos e apatia [47].

410 Tais achados podem justificar a alteração nos consumos dos animais de todos os grupos
411 durante o experimento, pois mesmo o grupo controle sem tratamento foi manipulado para fazer
412 gavagens e foram submetidos a introdução de cânula no ânus. Acredita-se que os ratos com colite
413 sentiam desconforto abdominal pois esse sintoma se associa à redução de ingestão dietética [48],
414 conforme evidenciado pelos resultados de consumo de ração.

415 A indução de colite com ácido acético ocorreu como o esperado, que é um tipo de indução
416 de característica aguda, e causa no rato reações inflamatórias semelhantes à colite ulcerativa que
417 ocorre nos homens, pois a inflamação intestinal não é transmural, afetando diretamente as camadas
418 mucosa e submucosa do intestino [49].

419 Presume-se que a situação de estresse que ocorreu sobre os ratos também possa ter
420 influenciado sobre os resultados do IAD, esse índice avalia os sinais clínicos relacionados à indução
421 da colite que incluem além do percentual de perda de peso, a diarreia e o sangramento retal.
422 Oliveira et al. [50] relataram piora no IAD nos dias 1, 4 e 7 após indução da colite, tais fatos foram
423 semelhantes no presente estudo, principalmente para o grupo que recebeu o Jucá, no qual os ratos
424 apresentaram piores índices nos dias 1 e 7. A sulfassalazina manteve os ratos com menor IAD após
425 a colite, variando menos esse índice em comparação com o grupo que recebeu o Jucá.

426 Mais uma vez, verifica-se que o estresse apresentado pelos animais pode estar associado à
427 perda de peso [47, 51], pois os animais do grupo controle sem tratamento obtiveram uma maior
428 perda de peso no dia 7, o que resulta em um elevado IAD para esse dia.

429 Ao analisar a histopatologia do cólon distal, local que foi afetado pela colite induzida,
430 identificou-se a aderência do cólon e demais órgãos abdominais e a hiperemia, que foram
431 verificados em diversas partes do intestino grosso, e tal fato também ocorreu no estudo de Durmus,
432 Durmus, Bender & Karatepe [52]. O processo inflamatório costuma se iniciar a partir do
433 espessamento da parede de um órgão, pode haver eritema e então surgem áreas hiperemiadas que
434 podem evoluir para necrose do tecido [53]. Tais alterações foram verificadas nos ratos com colite.

435 O Jucá não amenizou a hiperemia intestinal, e as zonas de lesão nestes animais eram
436 superiores a 2 cm, com grandes danos teciduais, além de também apresentar aderência numa
437 frequência maior se comparado aos animais que receberam a sulfassalazina, de forma que o Jucá
438 não atenuou as lesões da colite conforme o esperado.

439 Analisando por um outro ponto de vista, a hiperemia tecidual apresentada nos animais que
440 receberam o Jucá pode também estar associada a uma tentativa de cicatrizar e devolver para o
441 tecido a sua homeostase, de forma que os danos teciduais causados por condições como a colite
442 podem desencadear uma resposta inflamatória imediata, caracterizada pelo rubor, tumor, calor e
443 dor. Essas reações são mediadas por células presentes na circulação sanguínea ou até mesmo, no
444 próprio tecido, que produzem uma sinalização química [54].

445 Já a aderência apresentada por esse mesmo grupo, pode ser atribuída ao processo cicatricial,
446 avaliado no critério reepitelização. As aderências resultam de uma cicatrização anormal a partir de
447 uma lesão tecidual, que se relaciona a formação de uma rede de fibrina, devido à ação de
448 mediadores inflamatórios como o TGF- β e interleucinas que reduzem a capacidade fibrinolítica, o

449 que pode trazer uma condição muito grave, que é a obstrução intestinal, condição observada ao
450 coletar o intestino de alguns animais [55].

451 Para a análise de inflamação tecidual por meio do infiltrado de células de defesa no intestino
452 grosso, foi identificada a presença de neutrófilos nos grupos com colite, tal fato é esperado diante
453 do método de indução de colite utilizado, conforme relatado por Melo et al. [49].

454 Os neutrófilos são subtipos de leucócitos granulócitos que caracterizam o estado
455 inflamatório em lesões extensas [56]. Essas células normalmente encontram-se em abundância na
456 corrente sanguínea, mas quando há um processo inflamatório, essas células migram dos vasos
457 sanguíneos para o tecido, com a finalidade de formar uma barreira protetora contra
458 microorganismos e demais patógenos [54].

459 Esse processo é considerado uma resposta rápida, precoce e aguda. Os neutrófilos produzem
460 quimiocinas que proporcionam a remoção de partículas incomuns ao tecido, como bactérias, bem
461 como tecido morto e por fim, inicia-se o processo de restauração da região que foi lesionada [57,
462 58].

463 A inflamação apresentada pelos animais com colite pode ser resultado da própria condição
464 clínica, causada pela indução química, bem como das substâncias liberadas pelo infiltrado
465 neutrofilico, sendo que por meio de suas enzimas digestivas teciduais, essas células de defesa
466 podem causar um efeito adverso esperado, devido à sua motilidade e migração aos tecidos
467 lesionados [56].

468 O Jucá não eliminou os danos teciduais, mas proporcionou um escore de danos menor nos
469 animais, e uma pequena parcela desses ratos tiveram danos teciduais graves, resultado da presença
470 de eritema, hiperemia, áreas de hemorragia e ulcerações [35].

471 Nos animais com colite também verificou-se placas de Peyer, o que não é comum de ser
472 encontrado no intestino grosso, e sim no intestino delgado [59], tal fato é resultado de uma
473 metaplasia das células epiteliais do cólon [60]. Acredita-se que a presença das placas de Peyer se
474 deva às citocinas inflamatórias produzidas pelo quadro inflamatório associado à colite [61].

475 O tecido imune de mucosa reveste dentre outros órgãos, todo o sistema gastrointestinal, que
476 tem como função, protegê-lo contra a ação de patógenos e que faz parte do sistema imune
477 adaptativo [60]. Além disso, Lee et al. [62] relatam que uma das características da metaplasia no
478 cólon são as alterações da estrutura da mucosa papilar, trazendo características do intestino delgado,
479 tal fato corrobora com os achados do presente estudo, onde as placas de Peyer, estruturas
480 comumente encontradas no intestino delgado, foram encontradas no cólon.

481 Apesar dos efeitos danosos observados nos ratos que consumiram o chá do Jucá, ao avaliar
482 as criptas intestinais, verificou-se que nesses animais e naqueles que possuíam colite sem
483 tratamento, houve maior comprimento dessas estruturas. Quando há lesão intestinal pode haver um

484 encurtamento e separação, além de descamação do epitélio basal do intestino grosso, afetando a
485 estrutura das criptas e conseqüentemente, a secreção de muco [63]. Como no grupo Jucá não foram
486 verificadas essas alterações estruturais nas criptas, tal fato pode indicar que para esse parâmetro, o
487 fruto não foi prejudicial, garantindo assim maior integridade das criptas do intestino grosso [64].
488 Apesar desses achados, verifica-se ainda na histologia de alguns animais a ausência de
489 microvilosidades devido aos efeitos da colite, não amenizada pelo Jucá em casos como este.

490 Para o diagnóstico e tratamento das DII também são indicados os exames de função renal,
491 hepática, albumina e de marcadores inflamatórios [65]. Devido a isso, investigou-se possíveis
492 alterações hepáticas associadas ao uso da sulfassalazina e do chá do Jucá.

493 A dosagem de ALT, marcador bioquímico de função hepática, auxilia no diagnóstico de
494 lesão aguda que pode estar relacionado ao uso de medicamentos que podem levar a necrose de
495 hepatócitos, dentre esses medicamentos, destaca-se a sulfasalazina [66], observando nos animais em
496 uso desse medicamento um nível elevado de ALT, considerando a referência de 38 a 82 U/L para
497 ratos machos [67].

498 A sulfassalazina é um medicamento da classe dos aminosalicilatos com atuação direta sobre
499 o cólon, utilizado no tratamento das DII, foi administrada em um grupo com colite, devido ao seu
500 papel de amenizar o processo processo inflamatório e manter o indivíduo em período de remissão
501 da doença [68].

502 Os efeitos colaterais associados ao uso da sulfassalazina incluem náuseas, diarreia, dor
503 abdominal, bem como a hepatotoxicidade [68], atribuída à elevação da ALT, e ao maior peso de
504 fígado encontrado no presente estudo, o que pode-se associar ao acúmulo de infiltrado inflamatório
505 hepático [69]. Dessa forma, acredita-se que esses animais sofreram uma injúria hepática devido a
506 uma hepatite tóxica causada pelo fármaco [70].

507 Além disso, o uso de medicamentos para colite e a condição inflamatória da doença,
508 aumenta o risco de lesões hepáticas [71, 72, 73], um exemplo é o estudo de Chiba et al [74] no qual
509 os autores relatam o desenvolvimento de doença hepática gordurosa não alcoólica em um paciente
510 com retocolite ulcerativa.

511 Apesar das divergências encontradas nas dosagem da AST entre os ratos do controle sem
512 tratamento e dos demais animais dos grupos com colite, havia normalidade nos resultados obtidos,
513 tendo como referência o estudo de Lima et al. [67] que é de 61 a 210 U/L para ratos machos.
514 Segundo Melo et al. [75], a AST é uma enzima encontrada também no coração, e o sangue foi
515 coletado via punção cardíaca, o que justificaria o resultado mais elevado dessa enzima em alguns
516 animais.

517 O funcionamento do fígado também se relaciona à produção e síntese de algumas proteínas,
518 dentre elas, a albumina, uma proteína de fase aguda negativa e as globulinas [76]. Os quadros de má

519 absorção intestinal associados com diarreia que ocorre em indivíduos com colite em diferentes
520 graus, levam a uma inflamação aguda intestinal que podem influenciar nos níveis de albumina, e
521 também a um quadro de desnutrição [66].

522 Dessa forma, tem-se duas situações que podem contribuir com a hipoalbuminemia, a
523 primeira, que corresponde a uma hemodiluição da albumina ou até mesmo uma perda intestinal de
524 proteínas plasmáticas [56], bem como a mobilização de proteínas devido a gravidade da injúria
525 causada pela colite [76]. Ambas as hipóteses refletem a situação nutricional e o estado inflamatório
526 [77].

527 Acredita-se que ocorreu a hipoalbuminemia por exsudação intersticial, caracterizada pela
528 fuga da albumina para o interstício. Com a redução dos níveis de albumina, a pressão oncótica
529 também reduz, e uma das manifestações dessa condição é o edema. Seguido dessas reações, há o
530 aumento das globulinas [76, 62], ambas as alterações citadas ocorreram nos animais que
531 consumiram o Jucá.

532 As globulinas estão associadas à gravidade de inflamação na DII, seu aumento resulta da
533 progressão da doença. Quando se trata de DII, a relação albumina/globulina menor do que 1,0 g/dL
534 é um marcador de mau prognóstico, de forma que nos animais com o consumo do chá do Jucá essa
535 relação encontrava-se muito baixa, indicando assim, a gravidade da inflamação, fato esse que se
536 associa aos achados de infiltrado inflamatório neutrofílico no intestino dos ratos com colite e
537 consumo de jucá, [77, 76, 78].

538 Além das alterações hepáticas, verifica-se também um aumento dos níveis de ureia nos
539 animais que consumiram a sulfassalazina, fato esse que pode estar associado com o quadro de
540 desidratação causado pela colite [11] e pelo baixo consumo de água já relatados anteriormente.

541

542 **Conclusão**

543

544 A dose utilizada do jucá não demonstrou causar hepatotoxicidade, mas o uso de
545 sulfassalazina, sim, causando hepatite tóxica. A reação inflamatória causada pela colite foi de
546 característica aguda. Houve aumento de hiperemia intestinal, infiltrado neutrofílico, aderência e
547 metaplasia nos animais que consumiram o Jucá, mas as criptas intestinais mantiveram seu
548 comprimento. A relação albumina/globulina indicou piora no desfecho da colite dos ratos com Jucá.

549

550 **Agradecimentos**

551 À Universidade do Oeste Paulista - Unoeste pois o presente trabalho foi realizado com seu
552 apoio.

553

554 **Referências Bibliográficas**

555

- 556 [1] Paone P, D Cani P. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? Gut
557 2020;0:1-12. 10.1136/gutjnl-2020-322260
- 558 [2] Kim Y, Hwang SW, Kim S, Lee YS, Kim, TY, Lee SH, et al. Dietary cellulose prevents gut
559 inflammation by modulating lipid metabolism and gut microbiota. Gut Microbes 2020;11(4):944-
560 961. 10.1080/19490976.2020.1730149
- 561 [3] Tilg H, Zmora N, Adolph TE, Elinav E. The intestinal microbiota fuelling metabolic
562 inflammation. Nat Rev Immunol 2020;20:40-54. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0198-4>
- 563 [4] Einav L, Hirsch A, Ron Y Cohen NA, Lahav S, Kornblum J, Anbar R, Maharshak N, Fliss-
564 Isakov N. Risk factors for malnutrition among IBD patients. Nutrients 2021;13(4098):1-11.
565 <https://doi.org/10.3390/nu13114098>
- 566 [5] Han X, Ding S, Jiang H, Liu G. Roles of macrophages in the development and treatment of gut
567 inflammation. Cell Dev Biol 2021;9:1-15. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.625423>
- 568 [6] Iqbal T, DuPont HL. Approach to the patient with infectious colitis: clinical features, work-up
569 and treatment. Curr Opin Gastroenterol 2021;37(1):66,75. 10.1097/MOG.0000000000000693
- 570 [7] Hannoodee S, Nasuruddin DN. Acute inflammatory response. Em: StatPearls [internet]. Treasure
571 Island (FL): StatPearls Publishing; jan 2022. Disponível em:
572 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556083/> [acesso em 26 maio 2022]
- 573 [8] Azzouz LL, Sharma S. Physiology, Large intestine. In: StatPearls. StatPearls Publishing,
574 Treasure Island (FL); 2021. <https://europepmc.org/article/nbk/nbk507857> [acesso em 26 maio
575 2022]
- 576 [9] Ge H, Cai Z, Chai J, Liu J, Liu B, Yu Y, et al. Egg white peptides ameliorate dextran sulfate
577 sodium-induced acute colitis symptoms by inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines
578 and modulation of gut microbiota composition. Food Chem 2021;360(129981):1-11.
579 10.1016/j.foodchem.2021.129981
- 580 [10] Moreira E, Rodríguez X, López P, Silva L, Olano E. Nutrición em las enfermedades
581 inflamatorias del intestino. Una revisión. Rev Méd Urug 2021;37(3):e37309.
582 <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1341557> [acesso em 10 julho de 2022].

- 583 [11] Çakıroğlu S, Uyar S, Çekin AH. Evaluation of malnutrition risk with malnutrition universal
584 screening tool (MUST) in inflammatory bowel disease patients. *DAHUDER Med J* 2021;1(1):16-
585 21. https://dergipark.org.tr/en/pub/dahudermj/issue/65576/1010332#article_cite [acesso em 26 maio
586 2022].
- 587 [12] Santos ALC, Dias BCO, Silva KA, Ferreira JCS. Terapia nutricionais nas doenças
588 inflamatórias intestinais: doença de Crohn e retocolite ulcerativa. *Res Soc Develop*
589 2021;10(7):e11410716660. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16600>
- 590 [13] Wang Y, Tao H, Huang H, Xiao Y, Wu X, Li M, et al. The dietary supplement *Rhodiola*
591 *crenulata* extract alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice through anti-
592 inflammation, mediating gut barrier integrity and reshaping the gut microbiome. *Food Funct*
593 2021;12:3141-3158. 10.1039/d0fo03061a
- 594 [14] Li C, Wang J, Ma R, Li L, Wu W, Cai D, et al. Natural-derived alkaloids exhibit great potential
595 in the treatment of ulcerative colitis. *Pharmacol Res* 2022;175(1):105972.
596 <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105972>
- 597 [15] Luna MSM, Paula RA, Costa RMPB, Anjos JV, Silva MV, Correia MTS. Bioprospection of
598 *Libidibia ferrea* var. *ferrea*: phytochemical properties and antibacterial activity. *S Afr J Bot*
599 2020;130:103-108. 10.1016/j.sajb.2019.12.013
- 600 [16] Tanaka EM. Prefeitura Municipal de Campinas. Secretaria Municipal de Saúde. Farmácia de
601 Manipulação Municipal: “Botica da Família”. Cartilha de plantas medicinais. 1 ed. 54 f. 2018.
602 <https://saude.campinas.sp.gov.br/programas/protocolos/protocolos.htm> [acesso em 10 julho 2022].
- 603 [17] Macêdo NS, Silveira ZS, Bezerra AH, Costa JGM, Coutinho HDM, Romano B, et al.
604 *Caesalpinia ferrea* C. Mart (Fabaceae) phytochemistry, ethnobotany, and bioactivities: a review.
605 *Molecules* 2020;25(3831):1-33. 10.3390/molecules25173831
- 606 [18] Macedo NS, Santos CRB, Pereira RLS, Bezerra SR, Scherf JR, Freitas TS, et al.
607 Phytochemical prospection, evaluation of antibacterial activity and toxicity of extracts of *Libidibia*
608 *ferrea* (Mart. Ex Tul.) L.P. Queiroz. *Arab J Chem* 2022;15(103632):1-9.
609 <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103632>
- 610 [19] Holanda BF, Araujo DF, Silva JNR, Pereira MG, Pires AF, Assreuy MAS. Polysaccharide-rich
611 extract of *Caesalpinia ferrea* stem barks attenuates mice acute inflammation induced by zymosan:
612 oxidative stress modulation. *J Ethnopharmacol* 2021;267:113501.
613 <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113501>

- 614 [20] Fagiani MAB, Estopa BME, Silva DB, Guimarães LJ, Andrade APM, Genaro SC, Santarém
615 CL, Lenquiste SA. Caracterização química de chá e extrato metanólico de vagens com sementes de
616 *Libidibia Ferrea* (Jucá). RSD Journal 2022;11(12):e192111234147. [https://doi.org/10.33448/rsd-](https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34147)
617 [v11i12.34147](https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34147)
- 618 [21] Ministério Da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de
619 Experimentação Animal – CONCEA. Diretrizes da prática de eutanásia do CONCEA, 2013.
620 [https://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/r](https://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/resolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-CONCEA-n-13-de-20.09.2013-D.O.U.-de-26.09.2012-Secao-I-Pag.-5.pdf)
621 [esolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-CONCEA-n-13-de-20.09.2013-D.O.U.-de-](https://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/resolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-CONCEA-n-13-de-20.09.2013-D.O.U.-de-26.09.2012-Secao-I-Pag.-5.pdf)
622 [26.09.2012-Secao-I-Pag.-5.pdf](https://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/resolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-CONCEA-n-13-de-20.09.2013-D.O.U.-de-26.09.2012-Secao-I-Pag.-5.pdf) [acesso em 22 maio 2022]
- 623 [22] Committee for Update of the guide for the care and use of the laboratory Animals:
624 Environment, housing and management. In: Guide for the care and use of laboratory animals.
625 Washington: The National Academic Press, 2011. pp. 41–103.
- 626 [23] Sert NP, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines
627 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. Plos Biology 2020.
628 <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
- 629 [24] National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. National
630 Academy Press 1996, Washington, D.C. [https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-](https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf)
631 [use-of-laboratory-animals.pdf](https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf) [acesso em 22 maio 2022].
- 632 [25] Lenquiste SA, Marineli RS, Moraes EA, Dionísio AP, Brito ES, Marística Jr MR. Jaboticaba
633 peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity
634 model. Food Res Int 2015;77(2):162-170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.023>
- 635 [26] Falcão TR, Araújo AA, Soares LAL, Farias IB, Silva WAV, Ferreira MRA, et al. *Libidibia*
636 *ferrea* fruit crude extract and fractions show anti-inflammatory, antioxidant, and antinociceptive
637 effect *in vivo* and increase cell viability *in vitro*. eCAM 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6064805>
- 638 [27] Sepehrimanesh M, Samimi N, Koohi-Hosseiniabadi O, Mokhtari M, Amiri-Zadeh, Farjam M.
639 Effects of cupressus sempervirens extract on the healing of acetic acid-induced ulcerative colitis in
640 rat. J Coloproctol 2018;38(4):309-313. <https://doi.org/10.1016/j.jcol.2018.07.002>
- 641 [28] Millar AD, Rampton DS, Chander Cl, Claxson AWD, Blades S, Coumbe A, et al. Evaluating
642 the oxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis.
643 Gut 1996, 39:407-415. [10.1136/gut.39.3.407](https://doi.org/10.1136/gut.39.3.407)

- 644 [29] Camuesco D, Peran L, Comalada M, Nieto A, Stasi LCD, Rodriguez-Cabezas E, et al.
645 Preventative effects of lactulose in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Inflamm*
646 *Bowel Dis* 2005;11(3):265-271. <https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000160808.30988.d9>
- 647 [30] Kerr M, Fitzgerald M, Sheridan JJ, McDowell DA, Blair É. Survival of *Escherichia coli*
648 O157:H7 in bottled natural mineral water. *J Appl Microbiol* 1999;87(6):833-41. 10.1046/j.1365-
649 2672.1999.00928.x.
- 650 [31] Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LFP. Aspectos fundamentais da
651 experimentação animal – aplicações em cirurgia experimental. *Rev Assoc Med Bras* 2010,
652 56(1):103-111. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302010000100024>
- 653 [32] Paiva FP, Maffili VV, Santos ACS. Curso de manipulação de animais de laboratório. Fundação
654 Osvaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz. 2005. Disponível em
655 http://www.bioteriocentral.ufc.br/arquivos/apostilha_manipulacao.pdf [acesso em 22 maio 2022].
- 656 [33] Sánchez-Hidalgo M, Martín AR, Villegas E, De La Lastra CA. Rosiglitazone, an agonist of
657 peroxisome proliferator-activated receptor gamma, reduces chronic colonic inflammation in rats.
658 *Biochem Pharmacol* 2005;69(12):1733-44. 10.1016/j.bcp.2005.03.024.
- 659 [34] Bobin-Dubigeon C, Collin X, Grimaud N, Roberto JM, Le Baut G, Petit JY. Effects of tumor
660 necrosis factor- α synthesis inhibitors on rat trinitrobenzene sulphonic acid-induced chronic
661 colitis. *Eur J Pharmacol* 2001;431(1):103-10. 10.1016/s0014-2999(01)01410-8
- 662 [35] Lima V, Brito GAC, Cunha FQ, Rebouças CG, Falcão BAA, Augusto RF, et al. Effects of the
663 tumor necrosis factor- α inhibitors pentoxifylline and thalidomide in short-term experimental oral
664 mucositis in hamsters. *Eur J Oral Sci* 2005, 113:210-217. 10.1111/j.1600-0722.2005.00216.x.
- 665 [36] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância
666 epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8 ed. 444p. 2010.
- 667 [37] Wilson FD, Cummings TS, Barbosa TM, Williams CJ, Gerard PD, Peebles ED. Comparison of
668 two methods for determination of intestinal villus to crypt ratios and documentation of early age-
669 associated ratio changes in broiler chickens. *Poult Sci* 2018, 97(5):1757-1761. 10.3382/ps/pex349
- 670 [38] Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant
671 power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239(1): 70-76. 10.1006/abio.1996.0292.

- 672 [39] Firuzi O, Lacanna A, Petrucci R, Marrosu G, Saso L. Evaluation of the antioxidant activity of
673 flavonoids by “ferric reducing antioxidant power” assay and cyclic voltammetry. *Biochim Biophys*
674 *Acta* 2005;1721(1-3):174-84. 10.1016/j.bbagen.2004.11.001
- 675 [40] Zar JH. *Bioestatistical analysis*. 5.ed. Prentice Hall, 2009.
- 676 [41] Rodrigues MS, Rosário RGA, Costa MV, Alves ESF, Gomes MAF. Estudo comparativo entre
677 conhecimento popular e científico de plantas medicinais de espécies da família fabaceae. *Extensão*
678 *Rural: Práticas e pesquisas para o fortalecimento da agricultura familiar*. Cap. 15:206-212.
679 <https://www.editoracientifica.org/articles/code/210404082> [acesso em 10 julho de 2022].
- 680 [42] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de ciência, tecnologia e insumos estratégicos.
681 Departamento de assistência farmacêutica. *A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisa de*
682 *plantas medicinais da centra de medicamentos*. 148p. 2006.
683 <https://pesquisa.bvsalud.org/bvsms/resource/pt/mis-10185> [acesso em 10 julho 2022].
- 684 [43] Ferreira DQ, Ferraz TO, Araújo RS, Cruz RAS, Fernandes CP, Souza GC, et al. *Libidibia*
685 *ferrea* (jucá), a traditional anti-inflammatory: a study of acute toxicity in adult and embryos
686 zebrafish (*Danio rerio*). *Pharmaceuticals* 2019;12(175):1-15. 10.3390/ph1204017
- 687 [44] Oliveira GP, Gomes LSS, Venâncio GN, Lima ES, Souza TP, Bandeira MFCL, et al.
688 Citotoxicidade de uma formulação em orabase de *Libidibia ferrea*. *Res Soc Dev* 2021;10(10):1-8.
689 <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18713>
- 690 [45] Pickler TB, Lopes KP, Magalhães SA, Krueger CMA, Martins MM, Cechinel Filho V, et al.
691 Effect of *Libidibia ferrea* bark and seed in maternal reproductive and biochemical outcomes and
692 fetal anomaly in rats. *Birth Defects Res* 2019;11(13):1-9. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1520>
- 693 [46] Prazeres LDKY, Aragão TP, Samara AB, Almeida CLF, Silva AD, Paula MMF, et al.
694 Antioxidant and antiulcerogenic activity of the dry extract of pods of *Libidibia ferrea* Mart. *Ex Tul.*
695 (Fabaceae). *Oxid Med Cell Longevity* 2019;1-24. <https://doi.org/10.1155/2019/1983137>
- 696 [47] Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de
697 Janeiro: Editora FIOCRUZ 2002. 388 p. [https://portal.fiocruz.br/livro/animais-de-laboratorio-](https://portal.fiocruz.br/livro/animais-de-laboratorio-criacao-e-experimentacao)
698 [criacao-e-experimentacao](https://portal.fiocruz.br/livro/animais-de-laboratorio-criacao-e-experimentacao) [acesso em 10 julho de 2022].
- 699 [48] Clore J, Dean S, Kumral AVW, Manthe E. Teenager with abdominal pain and decreased
700 appetite. *Pediatrics* 2010;145(5):e20192233. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-2233>

- 701 [49] Melo NMC, Almeida MVS, Campos DMO, Oliveira CBS, Oliveira JIN. Modelos animais de
702 indução das doenças inflamatórias intestinais: revisão integrativa. Rev Cienc Saude 2021;11(1):80-
703 87. <https://doi.org/10.21876/rcshci.v11i1.1056>
- 704 [50] Oliveira LG, Cunha AL, Duarte AC, Castañon MCMN, Chebli JMF, Aguiar JAK. Positive
705 correlation between disease activity index and matrix metalloproteinases activity in a rat model of
706 colitis. Arq Gastroenterol 2014; 51(2):107-112. <https://doi.org/10.1590/S0004-28032014000200007>
- 707 [51] Encarnação RO. Estresse e produção animal. Embrapa – CNPGC, 1986. Disponível em:
708 <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/318065>. [Acesso em 22 outubro 2022].
- 709 [52] Durmus A, Durmus I, Bender O, Karatepe O. The effect of *Hericium erinaceum* on the prevention of
710 chemically induced experimental colitis in rats. Korean J Intern Med 2021;36(1):S44-S52.
711 <https://doi.org/10.3904/kjim.2019.050>
- 712 [53] Lucena LC, Tomazelli AP, Souto AA, Lucena LC, Carvalho AAB. Avaliação necroscópica de choque
713 séptico por complicações de colecistite litiásica aguda. Rev Patol Tocantins 2018;5(3):28-31.
714 [10.20873/uft.2446-6492.2018v5n3p28](https://doi.org/10.20873/uft.2446-6492.2018v5n3p28)
- 715 [54] Balbino CA, Pereira LM, Curi R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. Rev
716 Bras Ciênc Farm 2005;41(1):27-51. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100004>
- 717 [55] Correa-Rovelo JM, Vilanueva-López GC, Medina-Santillan R, Carrilo-Esper R, Díaz-Girón-
718 Gidí A. Intestinal obstruction secondary to postoperative adhesion formation in abdominal surgery.
719 Review literature. Cirugía y Cirujanos 2015;4:345-351.
720 <https://doi.org/10.1016/j.circen.2015.09.031>
- 721 [56] Oliveira-Costa KM, Menezes GB, Paula Neto HÁ. Neutrophil accumulation within tissues: A
722 damage x healind dichotomy. Biomed Pharmacother 2022;145,1-10.
723 <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112422>
- 724 [57] Isaac C, Ladeira PRS, Rego FMP, Aldunate JCB, Ferreira MC. Processo de cura de feridas:
725 cicatrização fisiológica. Rev Med 2010;89(3/4):125-131. [https://doi.org/10.11606/issn.1679-
726 9836.v89i3/4p125-131](https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v89i3/4p125-131)
- 727 [58] Dovi JV, Szpaderska AM, DiPietro LA. Neutrophil function in the healing wound: adding
728 insult to injury? Thromb Hemost 2004;92(2):275-280. [10.1160/TH03-11-0720](https://doi.org/10.1160/TH03-11-0720)

- 729 [59] Núñez CO. Revisión narrativa: perfiles inmunológicos presentes em la enfermedad
730 inflamatoria intestinal y síndrome del intestino irritable. *Acta Cient Estud* 2020;13(1):7-17.
731 Disponível em <http://bdigital2.ula.ve:8080/xmlui/654321/5398> [acesso em 05 junho 2022].
- 732 [60] Shenk M, Mueller C. The mucosal immune system at the gastrointestinal barrier. *Best Pract*
733 *Res Clin Gastroenterol* 2008;22(3):391-409. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2007.11.002>
- 734 [61] Bacardi-Sarmiento E. Efectos de los probióticos, prebióticos y simbióticos sobre la microbiota
735 intestinal. *EsTuSalud* 2021;3(3):e67. Disponível em
736 <http://www.revestusalud.sld.cu/index.php/estusalud/article/view/67> [acesso em 05 junho 2022].
- 737 [62] Lee BH, Woo ZH, Herrera L, Castilo N. Paneth cell hyperplasia mimicking colonic metaplasia
738 in a patient with ulcerative colitis. *KCPS* 1988, 4(1):1-6.
- 739 [63] Kaur A, Goggolidou P. Ulcerative colitis: understanding its cellular patholpgy could provide
740 insights into novel therapies. *J Inflamm* 2020;17:15. <https://doi.org/10.1186/s12950-020-00246-4>
- 741 [64] Mahmoud BL, Shady AM, Kifaft MA, El-Seify GH, Eldamhogy RA, Omara RS. The effect of
742 royal jelly versus sulfasalazine on acetic acid-induced colitis in adult albino rats. *Menoufia Med J*
743 2015;28(3):748-756. 10.4103/1110-2098.167897
- 744 [65] Dias PAR, Leite NAA, Guimarães ALC, Ferreira AC, Vieira BG, Azevedo GFM, Silva HG,
745 Campos LM, Laignier TFS, Dias YHFD. A relação do microbioma intestinal e o sistema imune no
746 desenvolvimento da doença de crohn. *REAC* 2020,17(e5618):1-7.
747 <https://doi.org/10.25248/reac.e5618.2020>
- 748 [66] Williamson MA, Snyder LM. Wallach: interpretação de exames laboratoriais. 10.ed.
749 Guanabara Koogan, 2018.
- 750 [67] Lima CM, Lima AK, Melo MGD, Dória GAA, Leite BLZ, Serafini MR, Albuquerque-Junior
751 RLC, Araújo AAS. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus*
752 linhagem *Wistar*) provenientes do biotério da universidade tiradentes. *Sci Plena* 2014,10(3):1-9.
753 Disponível em: <https://www.scienciaplenua.org.br/sp/article/view/1784>. [acesso em 23 outubro
754 2022].
- 755 [68] Beery RM, Kane S. Current approaches to the management of new-onset ulcerative colitis.
756 *Clin Transl Gastroenterol* 2014, 7:111-132. <https://doi.org/10.2147/CEG.S35942>
- 757

- 758 [69] Borba AJ, Rocha MGM, Silva MF, Tibúrcio DTS, Pereira SAL, Reis LC, Thedei Junior G.
759 Dieta hiperlipídico-proteica utilizada para emagrecimento induz obesidade em ratos. Rev Nutr
760 2011,24(4):519-528. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732011000400001>
- 761 [70] Galeano AK, Centurión JR, Soverina MS, Mereles LG, Campuzano-Bublitz MA, Kennedy
762 ML. *In vitro* antioxidant capacity and in vivo hepatoprotective effect of *Allophylus edius* leaf
763 extract. Biomed Biopharm Res 2022,19(1):181-194. 10.19277/bbr.19.1.288
- 764 [71] Sourianarayanan A, Garg G, Smith TH, Butt MI, McCullough AJ, Chen B. Risk factors of
765 non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. J Crohns Colitis
766 2013;7(8):e279-85. 10.1016/j.crohns.2012.10.015
- 767 [72] Magri S, Paduano D, Chicco F, Cingolani A, Farris C, Delogu G, et al. Nonalcoholic fatty liver
768 disease in patients with inflammatory bowel disease: beyond the natural history. World J
769 Gastroenterol 2019;25(37):5676-5686. 10.3748/wjg.v25.i37.5676
- 770 [73] Perez-Carreras M, Casis-Herce B, Rivera R, Fernandez I, Martinez-Montiel P, Villena V. Non-
771 alcoholic fatty liver disease in patients with intestinal, pulmonary or skin diseases: inflammatory
772 cross-talk needs a multidisciplinary approach. World J Gastroenterol 2021;27(41):7113-7124.
773 10.3748/wjg.v27.i41.7113
- 774 [74] Chiba M, Nakane K, Abe H, Komatsu M, Tozawa H. Onset of ulcerative colitis in a patient
775 with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): dramatic effect of plant-based diet for NAFLD.
776 Inflamm Bowel Dis 2019;25(11):e146-e147. 10.1093/ibd/izz208.
- 777 [75] Melo MGD, Dória GAA, Serafini MR, Araújo AAS. Valores de referência hematológicos e
778 bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem *Wistar*) provenientes do biotério central da
779 universidade federal de Sergipe. Sci Plena 2012,8(9):1-6. Disponível em:
780 <https://www.scienciaplenu.org.br/sp/article/view/295>. [acesso em 23 outubro 2022].
- 781 [76] Duarte ACG. Semiologia nutricional. 1 ed. Atheneu, 2019.
- 782 [77] Wang Y, Li C, Wang W, Wang J, Li J, Qian S, Cai C, Liu Y. Serum albumin to globulin ratio
783 is associated with the presence and severity of inflammatory bowel disease. J Inflamm Res 2022,
784 15:1907-1920. 10.2147/JIR.S347161
- 785 [78] Medeiros IMS, Ritter CG, Ribeiro Filho GHC, Prado PR. Caracterização e adequação
786 energético-proteica da nutrição enteral em pacientes em uma unidade de terapia intensiva.

- 787 SAJEETT 2019,6(2):381-395. Disponível em:
- 788 <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEETT/article/view/2910>. [acesso em 23 outubro 2022].

ANEXO A- PARECER FINAL DO COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) E DA COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS (CEUA)

10/05/22, 21:45

Certificado

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação
PEIC - Programa Especial de Iniciação Científica

Parecer Final

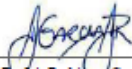
Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO JUCÁ (CAESALPINIA FERREA MART. EX TUL. VAR. FERREA) SOBRE A COLITE INDUZIDA EM RATOS WISTAR", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 7342 e tendo como participante(s) MARCELA DE ANDRADE BERNAL FAGIANI (discente), ANNA CAROLINE POLEGATO PEREIRA (discente), RAFAELA FRACAROLI INACIO (discente), FABIOLA DE AZEVEDO MELLO (discente), GISELE ALBORGHETTI NAI (docente), SANDRA CRISTINA GENARO (docente), LIZZIANE KRETLI WINKELSTROTTER ELLER (docente), SABRINA ALVES LENQUISTE (docente), CECILIA LAPOSY SANTAREM (orientador responsável), foi avaliado e APR. COM RECOMENDAÇÃO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.


Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APR. COM RECOMENDAÇÃO em reunião realizada em 06/04/2022.

MATERIAL ARMAZENADO/DOADO

| Protocolo(s) | Data Aprovação | Armazenado (local) | É doação | Detalhes armazenamento |
|--------------|----------------|--------------------|----------|-----------------------------------|
| 6525 | 12/12/2020 | UNOESTE | SIM | Laboratório de patologia Campus 1 |

Presidente Prudente, 10 de Maio de 2022.


Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Docente Responsável pela CPDI


Prof. Dr. Felipe Rydygier de Ruediger
Coordenador da CEUA - UNOESTE

Coordenadora de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação - CPDI - 18 3229-2079 - cpdi@unoeste.br
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP - 18 3229-2079 - cep@unoeste.br
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA - 18 3229-2079 - ceua@unoeste.br

valide este documento em www.unoeste.br/sgp informando o código de segurança 82d67fd28do6f3d4b0a061a832782a8f

ANEXO B- INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT (ARTIGO A)

1) Estrutura do texto:

- Título nesta sequência: inglês, português e espanhol.
- Os autores do artigo (devem ser colocados nesta sequência: nome, ORCID, instituição, e-mail). NOTA: O número ORCID é individual para cada autor, sendo necessário para registro no DOI, e em caso de erro não é possível efetuar o registro no DOI).
- Resumo e Palavras-chave nesta sequência: Português, Inglês e Espanhol (o resumo deve conter o objetivo do artigo, metodologia, resultados e conclusão do estudo. Deve ter entre 150 e 250 palavras);
- Corpo do texto (deve conter as seções: 1. Introdução, em que há contexto, problema estudado e objetivo do artigo; 2. Metodologia utilizada no estudo, bem como autores que sustentam a metodologia; 3. Resultados (ou alternativamente, 3. Resultados e Discussão, renumerando os demais subitens), 4. Discussão e, 5. Considerações finais ou Conclusão);
- Referências: (Autores, o artigo deve ter no mínimo 20 referências tão atuais quanto possível. Tanto a citação no texto quanto o item de Referências, utilizar o estilo de formatação da APA - American Psychological Association. As referências devem ser completas e atualizadas. ordem alfabética crescente, pelo sobrenome do primeiro autor da referência, não devem ser numerados, devem ser colocados em tamanho 8 e espaçamento 1,0, separados entre si por um espaço em branco).

2) Disposição:

- Formato Word (.doc);
- Escrito em espaço de 1,5 cm, usando fonte Times New Roman 10, em formato A4 e as margens do texto devem ser inferior, superior, direita e esquerda de 1,5 cm;
- Os recuos são feitos na régua do editor de texto (não pela tecla TAB);
- Os artigos científicos devem ter mais de 5 páginas.

3) Figuras:

A utilização de imagens, tabelas e ilustrações deve seguir o bom senso e, preferencialmente, a ética e a axiologia da comunidade científica que discute os temas do manuscrito. Nota: o tamanho máximo do arquivo a ser enviado é de 10 MB (10 mega).

Figuras, tabelas, quadros etc. (devem ter sua chamada no texto antes de serem inseridas. Após sua inserção, a fonte (de onde vem a figura ou tabela...) e um parágrafo de comentário para dizer o que o leitor deve observar é importante neste recurso

As figuras, tabelas e gráficos ... devem ser numerados em ordem crescente, os títulos das tabelas, figuras ou gráficos devem ser colocados na parte superior e as fontes na parte inferior.

4) Autoria:

O arquivo word enviado no momento da submissão NÃO deve conter os nomes dos autores.

Todos os autores precisam ser incluídos apenas no sistema da revista e na versão final do artigo (após análise dos revisores da revista). Os autores devem ser cadastrados apenas nos metadados e na versão final do artigo por ordem de importância e contribuição para a construção do texto. NOTA: Os autores escrevem os nomes dos autores na grafia correta e sem abreviaturas no início e no final do artigo e também no sistema da revista.

O artigo deve ter no máximo 10 autores. Para casos excepcionais, é necessária a consulta prévia à Equipe da Revista.

5) Comitê de Ética e Pesquisa:

Pesquisas envolvendo seres humanos devem ser aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

6) Vídeos tutoriais:

- Cadastro de novo usuário: <https://youtu.be/udVFytOmZ3M>
- Passo a passo da submissão do artigo no sistema da revista: <https://youtu.be/OKGdHs7b2Tc>

7) Exemplo de referências APA:

- Artigo de jornal:

Gohn, MG & Hom, CS (2008). Abordagens teóricas ao estudo dos movimentos sociais na América Latina. *Caderno CRH*, 21 (54), 439-455.

- Livro:

Ganga, GM D.; Soma, TS & Hoh, GD (2012). *Trabalho de conclusão de curso (TCC) em engenharia de produção*. Atlas.

- Página da Internet:

Amoroso, D. (2016). *O que é Web 2.0?* <http://www.tecmundo.com.br/web/183-o-que-e-web-2-0->

8) A revista publica artigos originais e inéditos que não sejam postulados simultaneamente em outras revistas ou órgãos editoriais.

9) Dúvidas: Qualquer dúvida envie um email para rsd.articles@gmail.com ou dorlivete.rsd@gmail.com ou WhatsApp (55-11-98679-6000).

Aviso de direitos autorais

Os autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

1) Os autores mantêm os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação com o trabalho simultaneamente licenciado sob uma Licença Creative Commons Attribution que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria do trabalho e publicação inicial nesta revista.

2) Os autores podem entrar em acordos contratuais adicionais separados para a distribuição não exclusiva da versão publicada do trabalho da revista (por exemplo, postá-lo em um repositório institucional ou publicá-lo em um livro), com reconhecimento de sua publicação nesta revista.

3) Autores são permitidos e incentivados a postar seus trabalhos online (por exemplo, em repositórios institucionais ou em seu site) antes e durante o processo de submissão, pois isso pode levar a trocas produtivas, bem como a maior e maior citação de trabalhos publicados.

Declaração de privacidade

Os nomes e endereços informados a este jornal são de seu uso exclusivo e não serão repassados a terceiros.

ANEXO C- INSTRUÇÕES PARA AUTORES DA REVISTA NUTRITION (ARTIGO B)

Submission checklist

Ensure that the following information and files have been included. One author has been designated as the corresponding author with contact details: E-mail address Full postal address Manuscript: Word doc or similar required. PDF is not suitable for review and production. Include keywords. Has been spell-checked and grammar checked. Has been edited by professional, preferably native-English-speaking editor. Tables: Include titles, description, footnotes. Create tables in the document rather than inserting image files, so that changes can be made. Figures: High quality and good resolution. Provide separate image files as well as in-manuscript. Include relevant captions. Indicate clearly if color should be used for any figures in print. Ensure all figure and table citations in the text match the files provided. If applicable include as separate files: Graphical abstracts Highlights (3-5, document file) Supplemental files References: All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa. Make sure reference style is consistent throughout. Further considerations: Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet). Relevant declarations of interest have been made. Journal policies detailed in this guide have been reviewed. Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements. Your Paper Your Way We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article. To find out more, please visit the Preparation section below.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing Please see our information on Ethics in publishing. **CONDITIONS OF PUBLICATION — ETHICAL AND LEGAL CONSIDERATIONS** All material submitted to Nutrition, for any section of the journal, is considered for publication on the understanding that authors (including all coauthors) agree to Nutrition's publication policies as stated in this section of the Guidelines to Authors. In the event of non-compliance with these conditions of publication, including issues that surface after a contribution is published, Nutrition's rights include: sending a notice of failure to comply to authors' employers and funding agencies; and/or informing readers via a published correction/retraction; the latter

is linked to the original contribution via electronic indexing and becomes part of the formal published record.

Research/publication misconduct is a serious breach of ethics. Such misconduct includes: i) Redundant or duplicate publication by same author(s), ii) Publication in another source by the same author(s) without acknowledgement or permission from the publisher, or iii) Plagiarism or self-plagiarism (publication of material without acknowledging original author source). iv) Fabrication of data, not substantiable via review of research records. Should such publications occur, editorial action would be taken. In certain cases, secondary publication is justifiable and even beneficial; however, such circumstances should be prospectively discussed with and agreed upon by the Editor-In-Chief. Nutrition will not accept a submission of work previously reported in large part in a published article (duplicate) or that is contained in another paper submitted or accepted for publication in Nutrition or elsewhere.

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author but copies should not be provided to the journal. Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals. Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Declaration of competing interest

Corresponding authors, on behalf of all the authors of a submission, must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony,

patent applications/registrations, and grants or other funding. All authors, including those without competing interests to declare, should provide the relevant information to the corresponding author (which, where relevant, may specify they have nothing to declare). Corresponding authors should then use this tool to create a shared statement and upload to the submission system at the Attach Files step. Please do not convert the .docx template to another file type. Author signatures are not required.

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. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and

(self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. More details and an example.

Authorship

Corresponding Author: One author is designated the corresponding author (not necessarily the senior author) who will be approached to clarify any issues, such as those pertaining to materials and methods, or technical comments. If Nutrition receives feedback from its readers concerning the published paper, the corresponding author will be contacted. It is this author's responsibility to inform all coauthors of such matters to ensure they are dealt with promptly. The corresponding author must affirm in the cover letter at the time of submission that: 1. None of the material in the manuscript is included in another manuscript, has been published previously, or is currently under consideration for publication elsewhere. This includes symposia proceedings, transactions, books, articles published by invitation, and preliminary publications of any kind except an abstract of less than 250 words. If there is any question concerning potential overlap, the related material must be included for evaluation. 2. Ethical guidelines were followed by the investigator in performing studies on humans or animals and should be described in the paper. The approval of the institutional review board of either animal or human ethics committee must be cited in the Methods. 3. Each author must have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content of the paper and must approve of the final version of the manuscript. Authorship should be based on substantive contributions to each of the following: conception and design of the study; generation, collection, assembly, analysis and/or interpretation of data; and drafting or revision of the manuscript; approval of the final version of the manuscript. Authors are required to include a statement in the Acknowledgements to specify the actual contribution of each coauthor under the above headings. 4. If requested, the authors will provide the data or will cooperate fully in

obtaining and providing the data on which the manuscript is based for examination by the editors or their assignees

Changes to Authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts: Changes to author names after acceptance are strongly discouraged and can be accepted only in compelling circumstances. Before the accepted manuscript is published in an online issue Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, 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. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed. After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Reporting clinical trials

Randomized controlled trials should be presented according to the CONSORT guidelines. At manuscript submission, authors must provide the CONSORT checklist accompanied by a flow diagram that illustrates the progress of patients through the trial, including recruitment, enrollment, randomization, withdrawal and completion, and a detailed description of the randomization procedure. The CONSORT checklist and template flow diagram are available online.

Registration of Clinical Trials

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with International Committee of Medical Journal Editors recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrollment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article.

A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

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 a '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, it is recommended to state this.

Open Access

Please visit our Open Access page for more information.

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 Author Services.

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. Submit your article All new manuscripts must be submitted through Nutrition's online submission and review Web site <https://www.editorialmanager.com/nut> Suggesting reviewers Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential reviewers. You should not suggest reviewers who are colleagues, or who have co-authored or collaborated with you during the last three years. Editors do not invite reviewers who have potential competing interests with the authors. Further, in order to provide a broad and balanced assessment of the work, and ensure scientific rigor, please suggest diverse candidate reviewers who are located in different countries/ regions from the author group. Also consider other diversity attributes e.g. gender, race and ethnicity, career stage, etc. Finally, you should not include

existing members of the journal's editorial team, of whom the journal are already aware. Note: the editor decides whether or not to invite your suggested reviewers.

PREPARATION NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process. As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately. Formatting author group Omission of titles after author names is required, since they can create confusion and misunderstandings, and delay publication time. References There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/ book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions. If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes. Divide the article into clearly defined sections. Figures and tables embedded in text Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

The peer review process

Double anonymized review This journal operates a double anonymized 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. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. More information on types of peer review. Anonymized review means the identities of the authors are concealed from the reviewers, and vice versa. More information is available on our website. To facilitate this, please include the following separately: Title page (with author details): This should include the title, authors' names, affiliations, acknowledgements and any Declaration of Interest statement, and a complete address for the corresponding author including an e-mail address. Anonymized manuscript (no author details): The main body of the paper (including the references, figures, tables and any acknowledgements) should not include any identifying information, such as the authors' names or affiliations.

An outline of what to expect, for this journal, from receipt of submission to first decision

The Managing Editor determines, generally within a week, whether the language and presentation are sufficiently clear for the review process, and whether there are any ethical or basic quality issues. If there are any concerns, the manuscript may be returned to the author for a chance to improve the manuscript. If the manuscript is then deemed clear and ethical, it goes to the Editor in Chief or Deputy Editor in Chief. Authors sometimes ask why the English must be improved at this stage, as it takes time and can be costly. The reason is that it helps us to engage the services of expert reviewers within a reasonable time frame, as they receive many requests, and helps all who check the manuscript to be sure of the authors' meaning from the start. Elsevier has an English-editing service, but authors are free to use any editor they like, as long as the result is a manuscript in which the science and methods are explained clearly. The Editor in Chief determines, also generally within a week, whether the science and methods are sufficiently sound for peer review, and the topic important enough for consideration of publication in this particular journal. If the manuscript passes this stage, it goes on to the Associate Editor. The Associate Editor manages the review process. Only a few reviewers can be invited at a time, and they are each allowed a maximum of five workdays to respond. If they agree to our request, they

are given 14 days to review the manuscript. If they are late, they are sent reminders. If they do not respond to reminders, they are uninvited and a new reviewer is invited in their place. When the Associate Editor determines that a sufficient amount of input has been provided by the reviewers, a decision is made. The decision may require further confirmation from the Editor in Chief. If, after 90 days from the date of submission, outside reviewer input is still deemed insufficient, the Associate Editor is required to make, in consultation with other editors or board members if needed, their own decision.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). 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.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when crossreferencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'. 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. 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. This should include 1) title of paper (use no abbreviations, limit: 120 characters with spaces), 2) running head of fewer than 55 characters with spaces, 3) full names of all authors with highest academic degree(s); 4) affiliations of all authors; 4) role of each author in the work (see Authorship); 5) a word count for the entire manuscript (including figures and tables), and the number of figures and tables, 4) the complete mailing address (including telephone, fax, and e-mail address of the corresponding author for e-mailing of proofs and reprint requests).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#). Highlights 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). Abstracts should be no more than 250 words. The structured abstract for an original investigation should be organized as follows:

Objective: The abstract should begin with a clear statement of the precise objective or question addressed in the paper. If a hypothesis was tested, it should be stated. **Research Methods & Procedures:** The basic design of the study and its duration should be described. The methods used should be stated, the statistical data/methods provided and referenced. **Results:** The main results of the study should be given in narrative form. Measurements or other information that may require explanation should be defined. Levels of statistical significance should be indicated, including other factors crucial to the outcome of the study. **Conclusion(s):** State only conclusions that are directly supported by the evidence and the implications of the findings. **Graphical abstract** Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. 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 and in accordance with all technical requirements.

Keywords

5—7 key words or phrases should be provided which should be selected from the body of the text and not duplicate title words. 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.

Acknowledgments

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, it is recommended to 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 should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

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 Regardless of the application used, 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 the font or save the text as 'graphics'. TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/halftone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- 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.

Illustration services

Elsevier's Author Services offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. 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 can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. 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 and shading in table cells.

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.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

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.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/ book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style Text:

Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given. List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text. Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 2018;19:e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>

Reference to a book: [3] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book: [4] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Reference to a website: [5] Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13 March 2003].

Reference to a dataset: [dataset] [6] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, *Mendeley Data*, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (*J Am Med Assoc* 1997;277:927–34) (see also Samples of Formatted References). Journal abbreviations source Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

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 in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into a data article published in Data in Brief. A data article is a new kind of article that ensures that your data are actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and made publicly available to all upon publication (watch this video describing the benefits of publishing your data in Data in Brief). You are encouraged to submit your data article for Data in Brief as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to Data in Brief where it will be editorially reviewed, published open access and linked to your research article on ScienceDirect. Please note an open access fee is payable for publication in Data in Brief. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief data article.

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

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. 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 Author Services. 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.