



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MARCELLA RAMOS SANT'ANA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DA
CASCA DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*), DO AÇAÍ JUSSARA (*Euterpe
edulis* Martius) E DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*) EM CAMUNDONGOS
SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA**

ALEGRE - ES
JULHO - 2014

MARCELLA RAMOS SANT'ANA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DA
CASCA DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*), DO AÇAÍ JUSSARA
(*Euterpe edulis* Martius) E DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*) EM
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa
Coorientadora: Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa
Coorientadora: Prof^a. Pollyanna Ibrahim Silva

ALEGRE - ES
JULHO – 2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

S231a Sant'Ana, Marcella Ramos, 1989-
Avaliação do potencial anti-inflamatório e antioxidante da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) em camundongos submetidos à dieta de cafeteria / Marcella Ramos Sant'Ana. – 2014.
44 f. : il.

Orientador: André Gustavo Vasconcelos Costa.

Coorientador: Neuza Maria Brunoro; Pollyanna Ibrahim Silva.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Inflamação. 2. Antioxidantes. 3. Jabuticaba. 4. Açaí. 5. Jambolão.
I. Costa, André Gustavo Vasconcelos. II. Costa, Neuza Maria Brunoro. III. Silva, Pollyanna Ibrahim. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

CDU: 664

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DA
CASCA DA JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*), DO AÇAÍ JUSSARA
(*Euterpe edulis* Martius) E DO JAMBOLÃO (*Syzygium cumini*) EM
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA DE CAFETERIA**

Marcella Ramos Sant'Ana

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 25 de julho de 2014.

Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa
Universidade Federal do Espírito Santo
(Orientador)

Profa. Pollyanna Ibrahim Silva
Universidade Federal do Espírito Santo
(Membro interno)

Profa. Neuza Maria Brunoro Costa
Universidade Federal do Espírito Santo
(Membro interno)

Prof. Dennys Esper Corrêa Cintra
Universidade Estadual de Campinas
(Membro externo)

Dedico esta dissertação aos meus pais, Célia e Marcos, pelo amor incondicional, por sonhar meus sonhos e fazer da sua felicidade a minha.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre nas horas difíceis mostrou sua providência em minha vida, sendo minha rocha e meu refúgio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro para a condução desta pesquisa (Universal 14/2012; Processo: 479093/2012-1).

Ao meu orientador, professor André Gustavo Vasconcelos Costa, pela confiança, paciência e ensinamentos durante todo o mestrado.

À professora Pollyanna Ibrahim Silva, por compartilhar seu conhecimento e sempre estar disponível em solucionar nossas dúvidas.

À professora Neuza Maria Brunoro Costa, pela contribuição indispensável em todas as etapas desta pesquisa.

Ao professor Dennys Esper Corrêa Cintra, pela expressiva ajuda por meio de sugestões e apoio a esta pesquisa.

À professora Mirelle Lomar Viana, pela colaboração durante o experimento.

Ao professor Heberth de Paula, pela ajuda durante as análises e principalmente pela amizade.

À professora Louisiane de Carvalho Nunes pela disponibilidade em ajudar sempre que solicitada.

Ao professor Paulo César Stringheta e ao Valério pelo auxílio durante a liofilização dos frutos.

Aos meus queridos veterinários, Dyeime, Antonio, Henrique, Rodolpho e Gabriela, por toda a ajuda durante a pesquisa.

Ao Eduardo, técnico do Laboratório de Nutrição Experimental, pelos divertidos dias de trabalho e pelo auxílio durante todos esses anos.

Às técnicas Amanda, Letícia e Natália pela disponibilidade durante as análises dos frutos.

À Vanessa e Sara que ajudaram e participaram diretamente desta pesquisa.

À Carmelita, pelos ótimos anos de convivência, parceria e amizade desde o início da faculdade.

À família PCTA, por todos os momentos inesquecíveis de alegria, amizade e companheirismo em Alegre.

À minha amada família, meus pais, Célia e Marcos; meus irmãos, Clerinson e Gedson; meus tios, Lucy, Edson, Neuza e Nivaldo pelo apoio, carinho e compreensão durante toda esta etapa.

O meu sincero agradecimento a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a concretização desta pesquisa

LISTA DE ABREVIATURAS

CAT - Catalase

ERO - Espécies Reativas de Oxigênio

GAE - Equivalente de Ácido Gálico

GPx - Glutathione Peroxidase

IKK - Ikb Quinase

IL - Interleucina

IRS - Substrato do Receptor de Insulina

JNK - Quinase c-Jun n-terminal

LPS - Lipopolissacarídeo

MDA - Malondialdeído

NF- κ B - Fator Nuclear Kappa B

SOD - Superóxido Dismutase

TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TEAC - Capacidade Antioxidante Equivalentes ao Trolox

TLR-4 - Receptor do Tipo *Toll Like*

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos	3
3 JUSTIFICATIVA	4
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
4.1 Fisiopatologia da obesidade	5
4.2 Antocianinas	7
4.3 Jabuticaba	9
4.4 Jambolão	11
4.5 Açaí jussara	12
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
5.1 Aquisição e preparo dos frutos	14
5.2 Análise dos produtos liofilizados.....	14
5.2.1 Composição centesimal.....	14
5.2.2 Preparo do extrato.....	15
5.2.3 Quantificação de compostos fenólicos dos produtos liofilizados	15
5.2.4 Quantificação de antocianinas totais dos produtos liofilizados	16
5.2.5 Determinação da capacidade antioxidante dos produtos liofilizados	16
5.3 Ensaio Biológico	17
5.3.1 Composição e preparo das dietas experimentais	17
5.3.2 Delineamento Experimental.....	19
5.3.3 Análise dos parâmetros oxidativos e inflamatórios.....	19
5.4 Análises estatísticas	20
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
7 CONCLUSÃO	35
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética	44

RESUMO

SANT'ANA, Marcella Ramos. **Avaliação do potencial anti-inflamatório e antioxidante da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) e do jambolão (*Syzygium cumini*) em camundongos submetidos à dieta de cafeteria.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. DSc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-orientador (es): Profa. PhD. Neuza Maria Brunoro Costa. Profa. DSc. Pollyanna Ibrahim Silva.

O aumento da gordura corporal está associado ao aumento da inflamação e do estresse oxidativo, o que pode comprometer a saúde do indivíduo. Uma alternativa para tentar reestabelecer o equilíbrio oxidativo e inflamatório do organismo seria a ingestão de compostos antioxidantes, como os polifenóis presentes em frutos como a jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), o jambolão (*Syzygium cumini*) e o açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius), frutos poucos consumidos, mas produzido em grandes quantidades no Sudeste brasileiro. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da suplementação desses frutos sobre o estresse oxidativo e o processo inflamatório em animais alimentados com uma dieta hipercalórica e hiperlipídica. Os frutos foram liofilizados e posteriormente foram avaliadas sua composição centesimal e sua concentração de compostos fenólicos totais, de antocianina e atividade antioxidante. Para o ensaio biológico, foram utilizados 30 camundongos machos adultos da raça Swiss distribuídos em 5 grupos (n=6/grupo), a saber: grupo tratado com dieta comercial padrão (controle negativo), grupo tratado com dieta de cafeteria (controle positivo) e grupos teste que receberam a dieta de cafeteria acrescida de 2% de casca de jabuticaba, ou jambolão ou açaí jussara liofilizados durante 14 semanas. Após o período experimental foi avaliada a capacidade antioxidante sérica e a peroxidação lipídica, assim como os níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6) e anti-inflamatórias (IL-10). Foi aplicado o teste t para comparação dos resultados dos grupos controle e ANOVA, complementada com teste de Tukey ($\alpha=5\%$), para comparação dos grupos testes com o controle positivo. O liofilizado do açaí jussara foi o fruto com maiores concentrações de antocianinas, enquanto a casca da jabuticaba foi o que apresentou maiores concentrações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro*. A suplementação com os frutos liofilizados foi eficaz em aumentar a atividade antioxidante sérica dos animais experimentais, porém não foi observada redução da peroxidação lipídica sérica. Quanto ao perfil inflamatório, não foi observada diferença entre os animais suplementados com os frutos liofilizados e os que receberam apenas a dieta de cafeteria. Pode-se concluir que os frutos testados foram eficazes em aumentar a atividade antioxidante sérica dos animais suplementados, mas não apresentaram efeito anti-inflamatório nesses animais.

Palavras-chave: inflamação, antioxidantes, jabuticaba, açaí, jambolão

ABSTRACT

SANT'ANA, Marcella Ramos. **Anti-inflammatory and antioxidant effects of jaboticaba peel (*Myrciaria cauliflora*), jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) and jambolan (*Syzygium cumini*) in mice submitted to the cafeteria diet.** 2014. Dissertation (MSc in Food Science and Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre-ES. Advisor: Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-advisor(s): Prof. Dr. Neuza Maria Brunoro Costa. Prof. Dr. Pollyanna Ibrahim Silva.

Increased body fat is associated with increased inflammation and oxidative stress, which may compromise the health of the individual. An alternative to try to restore the oxidative and inflammatory balance of the body would be the intake of antioxidant compounds such as polyphenols present in fruits such as jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), the jambolan (*Syzygium cumini*) and jussara açai (*Euterpe edulis* Martius), fruit with low consumption, but with a large production in southeastern Brazil. The objective of this study was to investigate the effect of supplementation of these fruits on oxidative stress and inflammation in animals fed a high calorie and high fat diet. The fruits were lyophilized and subsequently evaluated its chemical composition and concentration of total phenolics, anthocyanin and antioxidant activity. For the biological assay, 30 adult male mice of the Swiss race divided into 5 groups (n = 6/group) were used, namely: group treated with standard commercial diet (negative control), group treated with cafeteria diet (positive control) and test groups that received the cafeteria diet plus 2% freeze-dried jaboticaba peel powder or jambolan or acai jussara for 14 weeks. After the experimental period was evaluated serum antioxidant capacity and lipid peroxidation as well as the levels of the anti-inflammatory (IL-10) and proinflammatory cytokines (TNF- α and IL-6). It was applied t test to compare the results of the control groups and ANOVA, complemented with Tukey test ($\alpha = 5\%$), to compare the results between the tests groups and the positive control. The freeze-dried acai jussara powder was the fruit with higher concentrations of anthocyanins, while the jaboticaba peel showed the highest concentrations of phenolic compounds and antioxidant activity *in vitro*. Supplementing with freeze-dried fruits was effective in increasing serum antioxidant activity in experimental animals, but no reduction of serum lipid peroxidation was observed. Regarding the inflammatory profile, no difference between the animals supplemented with freeze-dried fruits and receiving only cafeteria diet was observed. It can be concluded that the fruits tested were effective in increasing serum antioxidant activity of the supplemented animals, but showed no anti-inflammatory effect in these animals.

Keywords: inflammation, antioxidants, jaboticaba, açai, jambolan

1 INTRODUÇÃO

A prevalência da obesidade tem atingido proporções epidêmicas e representa um dos principais desafios de saúde pública, uma vez que 2,8 milhões de pessoas no mundo morrem a cada ano como consequência do excesso de peso ou obesidade (NGUYEN; LAU, 2012, WHO, 2012).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, 500 milhões de pessoas são obesas e, aproximadamente, 1,4 bilhão sofre com excesso de peso (FAO, 2013). A projeção é de que em 2015 essa proporção seja de 700 milhões de obesos e 2,3 bilhões com excesso de peso (WHO, 2005).

No Brasil, conforme os dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), o percentual de obesos entre homens e mulheres acima de 20 anos aumentou de 8,9% e 13,1%, em 2002-2003 (IBGE, 2006) para 12,5% e 16,9% em 2008-2009, respectivamente (IBGE, 2010).

A obesidade é caracterizada pelo excesso de tecido adiposo corporal. Este tecido é responsável não só pelo armazenamento de energia, como também apresenta importante função endócrina. O aumento da gordura corporal, principalmente a visceral, está associado à redução de enzimas antioxidantes de produção endógena, como catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx) (CALDER, 2007). Ainda, está associado ao aumento de substâncias com atividade pró-inflamatória, como fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucinas (IL) 1, 6 e 8 (ROH et al., 2007; PEREZ-ECHARRI et al., 2009). Portanto, esses processos culminam em um desequilíbrio oxidativo (KEANEY et al., 2003) e inflamatório (PEREZ-MATUTE et al., 2007, WANG et al., 2008). Nesse contexto, estudos tem associado o excesso de gordura visceral à resistência à insulina, à dislipidemia, à hipertensão arterial e às doenças cardiovasculares, que, em conjunto, caracterizam o risco cardiometabólico (DESPRES; LEMIEUX, 2006).

Uma alternativa para tentar reestabelecer o equilíbrio oxidativo e inflamatório do organismo seria a ingestão de compostos antioxidantes presentes nos alimentos, como os polifenóis (COSTA et al., 2013). Na região do Sudeste brasileiro há uma grande biodiversidade de frutos ricos nesses compostos, como a jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), o açaí da palmeira Jussara

(*Euterpe edulis* Martius) e o jabolão (*Syzygium cumini*) (BRITO et al., 2007, COSTA et al., 2013).

A casca da jabuticaba é rica em compostos antioxidantes como vitamina C (RUFINO et al., 2010; COSTA et al., 2013) e polifenóis (REYNERTSON et al. 2008; SANTOS et al., 2010). Entre os compostos polifenólicos se destacam a quercetina, isoquercetina, quercimeritrina, quercitrina, rutina, miricitrina, ácido cinâmico, ácido O-cumárico, ácido gálico e ácido elágico (REYNERTSON et al., 2006; ABE et al., 2012, COSTA et al., 2013). As antocianinas são os flavonóides em maior concentração, com valores de 58,1mg/100g em matéria fresca (RUFINO et al., 2010). A suplementação da casca de jabuticaba na dieta de ratos Wistar foi capaz de aumentar a atividade antioxidante plasmática (LEITE et al., 2011), assim como compostos isolados da jabuticaba (jaboticabina) apresentaram ação anti-inflamatória *in vitro* (REYNERTSON et al., 2006)

O jabolão é rico em ácido elágico, quercetina, rutina, vitamina C e em antocianinas. Devido à elevada concentração de antioxidantes, sugere-se que o jabolão possua propriedades biológicas, como hipolipidêmica e hipoglicêmica, podendo ter efeitos cardioprotetores (BALIGA et al., 2011).

Outro fruto rico em antocianinas é obtido da palmeira Jussara. O seu despulpamento gera um produto semelhante nutricionalmente à polpa do açaí (*Euterpe oleracea*) (BRITO et al., 2007, COSTA et al., 2013). Correia et al. (2012), ao avaliarem a matéria seca deste fruto, encontraram altos valores de compostos fenólicos, como ácido elágico e antocianinas, assim como uma elevada atividade antioxidante.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito dos compostos bioativos da jabuticaba, do jabolão e do açaí jussara sobre o estresse oxidativo e o processo inflamatório em animais alimentados com uma dieta hipercalórica e hiperlipídica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a capacidade anti-inflamatória e antioxidante da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do açaí da palmeira Jussara (*Euterpe edulis Martius*) e do jambolão (*Syzygium cumini*) na redução dos danos oxidativos e inflamatórios causados pela obesidade em camundongos submetidos à dieta de cafeteria.

2.2 Objetivos específicos

- Quantificar o conteúdo de polifenóis e de antocianinas nos produtos liofilizados;
- Avaliar a capacidade antioxidante da jabuticaba, jambolão e do açaí Jussara liofilizados;
- Dosar os indicadores de estresse oxidativo e inflamatório plasmáticos dos animais experimentais;
- Confrontar o efeito dos produtos teste em relação à capacidade anti-inflamatória e antioxidante.

3 JUSTIFICATIVA

A prevalência da obesidade tem aumentado em proporções epidêmicas no mundo. O excesso de tecido adiposo, principalmente o visceral, provoca um desequilíbrio oxidativo e inflamatório, que pode aumentar o risco cardiometabólico pelo desencadeamento de outras doenças como hipertensão, diabetes e doenças cardiovasculares.

Estudos sugerem que o consumo de alimentos ricos em compostos antioxidantes, como os polifenóis, possa ser capaz de minimizar os danos intrínsecos causados pela obesidade. Além dos polifenóis, outros compostos bioativos estão presentes em concentrações significativas em frutas da região sudeste, como a jabuticaba, o açaí Jussara e o jambolão. Entretanto poucos estudos têm explorado os benefícios anti-inflamatórios e antioxidantes desses frutos *in vivo*.

Se comprovadas suas vantagens nutricionais, estes frutos poderiam ser uma alternativa de baixo custo e de fácil acesso, que traria benefícios à saúde da população e fomentaria a economia local.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Fisiopatologia da obesidade

A obesidade é uma doença crônica não transmissível, caracterizada pelo aumento do tecido adiposo, decorrente de um balanço energético positivo crônico, resultante de uma complexa interação entre fatores genéticos, neuroendócrinos e ambientais (CAMPIÓN; MILAGRO; MARTÍNEZ., 2010).

O tecido adiposo é um tecido ativo, capaz de secretar substâncias como fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina (IL), visfatina, resistina, inibidor de plasminogênio ativado-1 (PAI-1), angiotensinogênio, fator de transcrição ativado por ligantes (PPAR- γ), leptina e adiponectina (LYON; LAW; HSUEH, 2003; GUIMARÃES et al., 2007). Essas substâncias são denominadas adipocinas e agem de forma autócrina, parácrina e endócrina no controle do mecanismo da fome/saciedade, na sinalização da insulina, nos níveis séricos de lipídios, na coagulação, na inflamação e na aterogênese (LAU et al., 2005, ROH et al., 2007, PEREZ-ECHARRI et al. 2009).

Quando há um aumento no tamanho do tecido adiposo, há uma hipóxia no tecido o que fará aumentar a produção de algumas adipocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6, que em concentrações elevadas adquirem caráter pró-inflamatório. O aumento nos níveis circulantes de citocinas com caráter inflamatório levará a um estado de inflamação sistêmica de baixo grau, o que pode favorecer a resistência à insulina e o estresse oxidativo (LYON; LAW; HSUEH, 2003; GUIMARÃES et al., 2007; BRESSAN et al., 2009).

O estresse oxidativo gera danos celulares pela oxidação do DNA e de proteína e lipídios presentes na membrana celular. Uma célula lesionada por processos oxidativos e pelo processo inflamatório perderá progressivamente a sua função e sofrerá apoptose (KOHEN; NYSKA, 2002). Quando a perda da função acomete células do fígado ou de neurônios do hipotálamo há um comprometimento das funções metabólicas por um desequilíbrio no controle do mecanismo de fome/saciedade e o gasto energético, o que favorece o surgimento da obesidade (MILANSKI et al. 2009; MORAES et al., 2009).

A inflamação subclínica também pode estar associada ao padrão alimentar. As dietas ocidentais, ricas em ácidos graxos saturados, também

geram resposta inflamatória ao ativar a sinalização do TLR4 (*Toll-like receptors*) no hipotálamo (TSUKUMO et al. 2007). O TLR-4 é um receptor pertencente ao sistema imune inato e sua ativação leva ao aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-12, que ocasiona apoptose de neurônios e assim interfere na regulação da homeostase energética. Dessa forma, um desequilíbrio no mecanismo de fome/saciedade desencadeado por uma inflamação subclínica pode influenciar na obesogênese (MILANSKI et al., 2009, MORAES et al., 2009).

Tanto o aumento na secreção de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6), decorrente do aumento do tecido adiposo, quanto a ativação de TLR-4 ativam compostos como I κ B quinase (IKK) e quinase c-Jun n-terminal (JNK). Esses compostos apresentam atividades de serinas quinases, capazes de fosforilar os substratos do receptor de insulina (IRS-1 e IRS-2) em seu resíduo de serina 307, comprometendo a sinalização da insulina. Dessa forma, podendo iniciar o processo de resistência insulínica e surgimento do diabetes *mellitus*, uma vez que a perpetuação do processo inflamatório pode levar a apoptose das células β pancreáticas (HANSEL et al., 2004). Além de favorecer diretamente à resistência à insulina, a IKK β também ativa o fator de transcrição NF- κ β que resulta na transcrição de citocinas inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, que agem negativamente sobre os receptores de insulina (SHOELSON et al., 2003) (Figura 1).

Em suma, o aumento da inflamação subclínica e do estresse oxidativo, decorrente do aumento da gordura corporal, estão intimamente associados à resistência à insulina, dislipidemia, hipertensão arterial e doença arterial coronariana que, por sua vez, aumentam o risco cardiometabólico (DESPRES; LEMIEUX, 2006; VAN GAAL et al., 2006).

Uma alternativa para tentar reverter este quadro inflamatório e oxidativo desencadeado pela obesidade seria o aumento do consumo de alimentos ricos em compostos antioxidantes e com ação anti-inflamatória, como os polifenóis.

4.2 Antocianinas

Os flavonóides são metabólitos secundários das plantas pertencentes a classe dos polifenóis, que desempenham função de defesa contra fatores externos como, radiação ultravioleta e ataque de pragas (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Estes compostos fenólicos podem se apresentar na forma de monômeros, dímeros e oligômeros superiores que se localizam comumente nos vacúolos de frutas e vegetais (KUSKOSKI et al., 2004). A classe dos flavonóides se subdivide em seis grupos: flavonas, flavonóis, catequinas, flavanonas, isoflavonas e antocianinas.

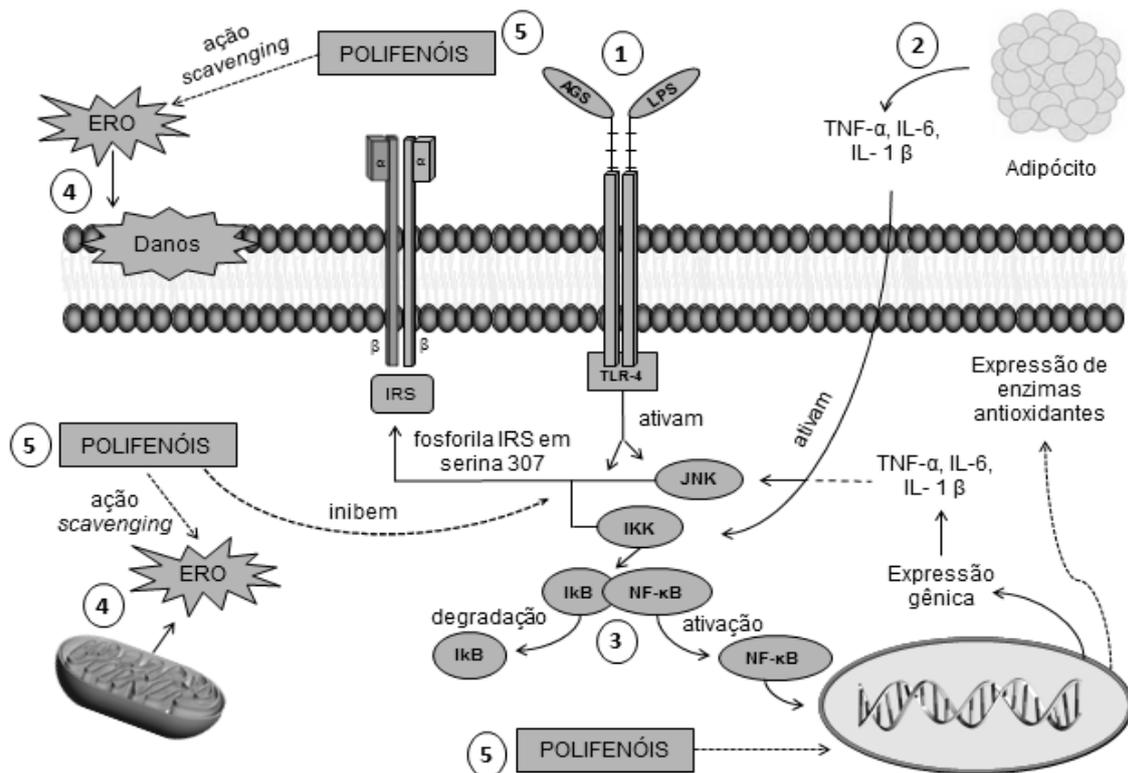
As antocianinas são pigmentos naturais que conferem coloração que variam de vermelho ao azul. Quando encontradas na forma livre são chamadas agliconas ou antocianidinas, porém são mais encontradas ligadas a moléculas de açúcares como glicose, ramnose, galactose, xilose e arabinose. As principais agliconas presentes nas frutas e vegetais são as cianidinas, pelargonidinas, delphinidinas, petunidinas, peonidinas, malvidinas (WU et al., 2006). Elas se diferem entre si pelos diferentes grupos substituintes que as formam e na coloração que elas proporcionam aos alimentos.

As antocianinas também possuem atividade antioxidante graças a sua estrutura fenólica que possibilita a transferência de elétrons, provenientes dos átomos de hidrogênio do grupo hidroxil presente no anel aromático, para um radical livre (RICE-EVANS et al., 1996).

Há diferentes hierarquias quanto à capacidade antioxidante dos flavonóides, sendo que as cianidinas e a quercetina são as que possuem maior capacidade antioxidante quando comparadas a outros flavonóides (RICE-EVANS et al., 1997). É em decorrência da alta capacidade antioxidante destes compostos químicos que diversos estudos têm sido realizados para testar seus benefícios na saúde humana.

Estudos epidemiológicos utilizando flavonóides tem proposto ação anti-inflamatória (ANGEL-MORALES et al., 2012), antiobesogênica (TSUDA et al., 2005), cardioprotetora (PASCUAL-TERESA; MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2010), anticarcinogênica (NORATTO et al., 2014), hipolipidêmica (ALEZANDRO, et al. 2013 a) e redução do risco de outras disfunções relacionadas com a resistência à insulina (GUO; XIA, 2014).

Segundo Noratto et al. (2011) a ação dos polifenóis na proteção celular ocorre de forma direta e indireta. Direta por agir como antioxidante e reduzir as espécies reativas de oxigênio (ERO) e indireta por inibir a ativação de NF- κ B, o que reduziria os níveis de citocinas inflamatórias, moléculas de adesão, além de indução de enzimas antioxidantes por aumentar a expressão de enzimas antioxidantes (Figura 1).



Adaptado: PAULI (2011); NORATTO et al. (2011)

Figura 1. Mecanismo de ação dos polifenóis na proteção celular contra a inflamação e o estresse oxidativo. (1) Lipolissacarídeos de bactérias gram-negativas e ácidos graxos saturados, provenientes da dieta, podem se ligar a receptores TLR-4 e ativar compostos como IKK e JNK. Estes podem fosforilar o substrato do receptor de insulina (IRS) em seu resíduo serina 307, o que prejudica a sinalização de insulina. (2) O tecido adiposo secreta citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-6 e IL-1 β que ativam IKK e JNK que fosforilam o substrato do receptor de insulina (IRS) no sítio serina 307, o que prejudica a sinalização de insulina. (3) IKK, quando ativada, pode romper o complexo I κ B/NF- κ B, pela degradação de I κ B, liberando NF- κ B, que pode agir no núcleo da célula e favorecer a expressão de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β). (4) Com a obesidade há o aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO), o que pode danificar estruturas da membrana celular e DNA, prejudicando o funcionamento celular. (5) Os polifenóis agem principalmente como antioxidantes, anulando a ação oxidante de ERO, o que reduziria o risco de perda na homeostase celular. Os polifenóis também inibem a ativação de NF- κ B, o que reduz o risco de resistência a insulina e instalação do processo inflamatório. Além disso, os polifenóis podem ativar fatores de transcrição que favorecem a expressão de enzimas antioxidantes.

4.3 Jabuticaba

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) é uma fruta nativa do Brasil e sua produção se concentra na região sudeste (COSTA et al., 2013), com uma maior produção nos meses de outubro e novembro (CEAGESP, 2010). Quando maduro, o fruto apresenta casca preta, polpa adocicada e levemente ácida, com aproximadamente dois centímetros de diâmetro e peso de aproximadamente cinco gramas (WU et al., 2012).

A jabuticaba é um fruto de baixas calorias, com cerca de 58 kcal/ 100 g, 15,3% de carboidrato, 2,3% de fibras, 0,6% de proteína, 0,1% de lipídios (TACO, 2011). Ela pode ser consumida tanto *in natura*, como na forma de sucos, geleias, compotas de frutas, licor e vinagre (CLERICI; CARVALHO-SILVA, 2011; WU et al., 2012).

A casca da jabuticaba é rica em compostos com características antioxidantes, a exemplo dos compostos fenólicos (ALEZANDRO et al., 2013 b), como a quercetina, isoquercetina, quercimeritrina, quercitrina, rutina, miricitrina, ácido cinâmico, ácido cumárico, ácido gálico, ácido elágico e depsídeos como a jabuticabina (REYNERTSON et al., 2006; ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2012).

Os flavonóides em maior concentração neste fruto são as antocianinas, com valores de 58,1 mg/ 100 g em matéria fresca (RUFINO et al, 2010), sendo que as antocianinas majoritárias nesse fruto são a delphinidina 3-O-glicosídeo e a cianidina-3-O-glicosídeo (WU et al., 2012). Quanto à concentração de compostos fenólicos totais, a jabuticaba apresenta aproximadamente 31,6 mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) / g em sua casca seca (REYNERTSON et al., 2008). A jabuticaba apresenta também outros compostos com ação antioxidante como a vitamina C (238 mg/100 g matéria fresca), valor este superior aos descritos para o jambolão (112 mg/100 g matéria fresca) e para o açaí jussara (186 mg/100 g matéria fresca) (RUFINO et al., 2010).

Além de alta capacidade antioxidante, a casca da jabuticaba liofilizada apresenta potencial antiproliferativo *in vitro* e antimutagênico *in vivo* (LEITE-LEGATTI et al., 2012), como também efeito antimicrobiano (SILVA et al., 2014) e hipocolesterolêmico (ALEZANDRO et al., 2013 a).

Um ensaio biológico utilizando ratos Wistar induzidos à diabetes por estreptozotocina, com administração diária de 1 ou 2 g/ kg de peso de jabuticaba liofilizada dissolvida em água, durante 40 dias, teve como resultado uma redução de 32% do colesterol e 50% dos triacilgliceróis plasmáticos, assim como uma redução de 22% da peroxidação lipídica e aumento da atividade enzimática da SOD, CAT e GPx, em comparação com o grupo controle (ALEZANDRO et al., 2013 a). Ainda foi observado que a suplementação de 2% da casa liofilizada da jabuticaba em dietas hiperlipídicas administradas a ratos Sprague–Dawley, durante quatro semanas, foi capaz de aumentar os níveis de HDL-c em 41,65% em comparação ao grupo controle (LENQUISTE et al., 2012).

Estudos recentes tem demonstrado ação benéfica da casa de jabuticaba liofilizada na redução de risco de desenvolvimento de resistência à insulina associada à obesidade (LENQUISTE et al., 2012; DRAGANO et al., 2013). Dragano et al. (2013) ao suplementar casca de jabuticaba liofilizada, durante 6 semanas, na proporção de 1%, 2% e 4% da dieta de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, observaram melhora na sensibilidade à insulina devido a redução da inflamação hepática.

No estudo de Leite et al (2011) verificou-se que a adição de 2% de casca de jabuticaba liofilizada na dieta de roedores exerceu aumento significativo no potencial antioxidante no plasma desses animais. Ainda, Reynertson et al. (2006) verificaram que extratos de jabuticaba apresentam forte atividade antioxidante pelo método de DPPH, como também atividade anti-inflamatória por meio da inibição da produção de IL-8, em estudo *in vitro*. Dados semelhantes foram encontrados *in vivo* ao suplementar 2% e 4% de casca de jabuticaba liofilizada em ratos induzidos à obesidade, durante seis semanas (BATISTA et al., 2014). Estes pesquisadores observaram, ao final do estudo, aumento na atividade antioxidante no plasma, fígado, rim e cérebro, assim como redução nos níveis séricos de ácidos graxos saturados, nos animais suplementados com 1% e 4% da casca da jabuticaba liofilizada, o que poderia ser fator protetor contra a hiperinsulinemia e inflamação. Contudo, o aumento do consumo de antocianinas presentes na casca de jabuticaba liofilizada, para valores acima de 4%, pode ocasionar redução na atividade antioxidante plasmática (LEITE et al., 2011).

4.4 Jambolão

O jambolão (*Syzygium cumini*) é um fruto originário da Índia pertencente à família Myrtaceae. Contudo, o cultivo desse fruto já se difundiu para outras regiões, sendo tipicamente encontrado no Brasil nos meses de dezembro a fevereiro (COSTA et al., 2013).

O *S. cumini* é conhecido como jambolão, jamelão, jalão, no entanto esta espécie também apresenta outras sinonímias científicas como *Eugenia jambolana* Lam., *Syzygium jambolanum* D.C., *C. jambolana* Willd, *C. cumini* Pers, entre outros (VEIGAS et al., 2007; COSTA et al., 2013).

O jambolão possui forma de baga, com formato oval e quando maduro, apresenta casa e polpa roxa escura, com gosto doce e levemente adstringente, com tamanho de aproximadamente 2 a 3 cm. O fruto ainda possui apenas uma semente centralizada e envolta pela polpa.

O sabor adstringente do fruto é devido à presença de taninos (SEVERO et al, 2011), enquanto que o gosto doce é resultado da presença de açúcares, como frutose, glicose, manose e galactose (SRIVASTAVA; CHANDRA, 2013). Devido ao sabor agradável, o jambolão pode ser consumido tanto *in natura*, quanto processado na forma de geleias e vinhos (LAGO; GOMES; SILVA, 2006).

Quanto à composição centesimal, o jambolão apresenta 41 kcal/100g, 0,5% de proteína, 0,1% de lipídios, 10,6% de carboidrato, 1,8% de fibra, 27,1 mg/100g de vitamina C e 394 mg/100g de potássio (TACO, 2011)

O jambolão também é fonte de quercetina, ácido elágico, rutina e antocianina. Este fruto apresenta em sua concentração 93,3 mg/100g de antocianinas em sua matéria fresca (RUFINO et al., 2010), valor este superior a outros frutos, como a acerola (18,9 mg/100 g em matéria fresca) e camu-camu (42,2 mg/100 g em matéria fresca) (BRITO et al., 2007; RUFINO et al., 2010). Estudo realizado por Faria, Marques e Mercadante (2011) observou que do total de antocianina presente no jambolão 45% encontrava-se na forma de delphinidina 3,5-diglicosídeo, 32% como petunidina 3,5-diglicosídeo, 15% em malvidina 3,5-diglicosídeo, além de traços de cianidina 3,5-diglicosídeo e peonidina 3,5-diglicosídeo.

Devido à alta concentração de antocianina, tem-se utilizado o jambolão como matéria prima para extração e purificação de antocianinas (JAMPANI; NAIK; RAGHAVARAO, 2014). Graças a essas altas concentrações de antocianinas e vitaminas com atividade antioxidante, diversos estudos tem sugerido que o jambolão apresenta propriedades anti-inflamatórias, hipolipidêmicas e anti-hiperglicemiantes, o que sugere possível efeito cardioprotetor (BALIGA et al., 2011, AYYANAR; SUBASH-BABU; IGNACIMUTH, 2013).

Estudos tem demonstrado o efeito hipoglicemiante de todas as partes do jambolão, tanto o fruto, quanto seu caule, casca, folha e semente (AYYANAR; SUBASH-BABU; IGNACIMUTH, 2013). Segundo Arun et al. (2011), o extrato da semente do jambolão apresenta também efeito anti-genotóxico e atua tanto na redução da peroxidação lipídica, como também favorece a ação de enzimas antioxidantes como, CAT e SOD em ratos diabéticos (PRINCE et al., 2003).

Além do efeito anti-inflamatório, hipolipidêmico e anti-hiperglicemiante, estudos já observaram outros efeitos farmacológicos como, antidiabético, antiulcerogênico, hepatoprotetor, antialérgico, antimicrobiano, antipirético, nefroprotetor e antidiarreico, radioprotetor (SRIVASTAVA; CHANDRA, 2013) e anti-amnésico (ALIKATTE et al., 2012).

4.5 Açaí jussara

O açaí (*Euterpe* spp) é um fruto não climatérico, com formato globoso com 1 a 2 cm de diâmetro e apenas uma semente, que representa cerca de 90% do seu peso. Sua semente e polpa são envoltas por uma casca de coloração roxa escura a preta (BRITO et al., 2007). Do fruto pode-se extrair a polpa e produzir uma bebida densa, de cor escura e de sabor agradável. A partir da polpa podem-se produzir diferentes tipos de bebidas, sorvetes e doces (BORGES et al., 2011)

O açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) é proveniente da palmeira Jussara, pertencente à família *Arecaceae* e amplamente encontrada na Mata Atlântica, principalmente nos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo,

Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (LORENZI, 2006).

O Brasil é um grande produtor e consumidor do açaí, principalmente o açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea* Martius). Entretanto, o fruto da palmeira Jussara é pouco explorado para o consumo, mesmo sendo nutricional e sensorialmente semelhante ao açaí da Amazônia (BORGES et al., 2011).

A polpa do açaí jussara é nutricionalmente rica. Ao avaliar a composição mineral desse fruto (mg/100 g de matéria seca), foram observados valores de 2,39 mg de β -caroteno, 5,2 mg de ferro, 2,07 mg de zinco, 23,9 mg de manganês (NOVELLO, 2011). Além de micronutrientes, o açaí jussara é rico em flavonóides, saponinas (NOVELLO, 2011), catequinas, epicatequinas e quercitina, assim como ácido ferúlico, gálico, hidroxibenzóico e cumárico (BORGES et al., 2011).

Rufino et al. (2010) encontraram altos valores de compostos fenólicos (755 mg GAE/100 g de matéria fresca), antocianina (192 mg/ 100g de matéria fresca) e atividade antioxidante (78,3 μ mols TEAC/g de matéria fresca) em comparação ao jambolão, jabuticaba e açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea*).

Novello (2011), ao avaliar o açaí jussara liofilizado, encontrou valores de antocianina totais de 2582,9 mg/100 g do liofilizado, em que 63,12% era na forma de cianidina 3-O-rutinosídeo e 36,88% eram na forma de cianidina 3-O-glicosídeo. Quanto à composição centesimal, foram encontrados 6,59% de proteína, 67,84% de carboidrato e 16,80% de lipídios.

No açaí jussara os ácidos graxos monoinsaturados predominam (45,53% a 56,82%), com destaque para o ácido oléico (44,17% a 55,61%). Os ácidos graxos saturados representam 24,32% a 28,89% do conteúdo lipídico, com o componente principal o ácido palmítico (20,25% a 25%). Os ácidos graxos polinsaturados representam 18,79% a 26,03% do conteúdo lipídico, com o componente principal o ácido linoleico (18,19% a 25,36%) (BORGES et al., 2011).

Ao suplementar 2% e 6% de açaí liofilizado na dieta de camundongos ApoE^{-/-} não foi verificada hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, sendo observada melhora do perfil lipídico, ação hipoglicemiante e favorecimento da defesa atividade antioxidante endógena (NOVELLO, 2011).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Aquisição e preparo dos frutos

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e o jabolão (*Syzygium cumini*) foram adquiridos de agricultores da região sul do estado do Espírito Santo. Estes frutos foram lavados com água, despolidos manualmente, com o descarte da polpa e do caroço da jabuticaba e do caroço do jabolão, e estocados a -20° C até o momento da liofilização. O açaí jussara (*Euterpe edulis* Martius) foi adquirido já despolido e pasteurizado da empresa Vip Polpa®. Estes foram transportados sob refrigeração e permaneceram à -20°C até serem liofilizados.

Os frutos foram liofilizados em liofilizador de bandeja, no Laboratório de Corantes Naturais do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. Após a liofilização os frutos foram acondicionados em recipientes laminados, sem o contato com luz e ar. As embalagens foram identificadas e mantidas a -20° C até o momento das análises.

5.2 Análise dos produtos liofilizados

5.2.1 Composição centesimal

As avaliações físico-químicas: umidade, lipídios, proteínas foram realizadas conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005) e as cinzas segundo a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1984). As análises foram realizadas, em triplicata, na casca de jabuticaba, jabolão e açaí jussara liofilizados.

A umidade foi determinada por secagem direta em estufa (BIOPAR®) a 105°C, até peso constante. O teor de proteínas foi mensurado utilizando o processo de digestão de Kjeldahl, em que o teor de nitrogênio foi convertido em teor de proteína multiplicando-se o valor encontrado pelo fator 6,25. A concentração de lipídios foi determinada por meio de extração intermitente em aparelho extrator de Soxhlet (MARCONI® MA491) durante 5 horas, utilizando-

se como solvente extrator o éter de petróleo. As cinzas foram determinadas por incineração em mufla (MARCONI[®] MA38512) à 550°C até a obtenção de cinzas claras. O percentual de carboidratos foi calculado por diferença, em que se subtraiu do total de 100% as porcentagens de umidade, proteína, lipídios e cinzas.

5.2.2 Preparo do extrato

Para a quantificação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foram preparados extratos a partir da metodologia adaptada de Rufino et al. (2010), em que 1 g de amostra liofilizada foi acrescida de 40 mL de solução metanol/água (50:50 v/v). A solução permaneceu 2 horas em agitador mecânico (CIENLAB[®]) a 25°C com agitação de 150 RPM. Ao final da agitação, a solução foi filtrada a vácuo e ao resíduo proveniente da filtração foi adicionado 40 mL de solução de acetona/água (70:30 v/v), o qual retornou ao agitador mecânico, onde permaneceu por mais 2 horas. Ao final da agitação, a solução foi filtrada a vácuo e os filtrados foram misturados em balão volumétrico de 100 mL, com volume ajustado com água destilada. Os extratos foram estocados em vidro âmbar à -20°C até o momento das análises.

5.2.3 Quantificação de compostos fenólicos dos produtos liofilizados

A quantificação de polifenóis totais das amostras liofilizadas foi determinada pelo ensaio do reagente de Folin-Ciocalteu, com base na metodologia adaptada de Singleton e Rossi (1965).

Em um tubo de ensaio foi acrescentado 0,6 mL do extrato do fruto liofilizado e 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu previamente diluído na razão de 1/10. Os tubos foram agitados vigorosamente em vórtex e permaneceram em repouso durante 3 minutos. Logo após, foi acrescentado 2,4 mL de solução de carbonato de sódio saturada em água destilada (7,5% m/v) e os tubos permaneceram em repouso por 1 hora. Após o tempo estabelecido, foi realizada a leitura da absorbância das amostras por espectrofotometria (BEL PHOTONICS[®] 2000 UV), em comprimento de onda de 760 nm. O índice de polifenóis totais foi determinado utilizando curva padrão de ácido gálico (0-150 mg/L; $R^2 = 0,999$) e os resultados foram expressos em ácido gálico equivalente

por grama de matéria seca (mg AGE/ g de MS). Toda a análise foi realizada em ambiente sem a incidência direta de luz.

5.2.4 Quantificação de antocianinas totais dos produtos liofilizados

As antocianinas das amostras liofilizadas foram quantificadas seguindo o método espectrofotométrico proposto por Francis (1982).

Para o preparo do extrato para análise de antocianina, pesou-se 1 g de amostra liofilizada e adicionou-se 60 mL de metanol/água (70:30 v/v). O pH da solução foi ajustado para 2 com o auxílio do HCl 3 mol/L. A solução ficou em repouso por 12 horas a 8°C, ao abrigo da luz. Após as 12 horas, a solução foi filtrada à vácuo e o filtrado diluído (1:10 v/v) em metanol-HCl 1,5 mol/L para a leitura da absorbância. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (BEL PHOTONICS® 2000 UV), com comprimento de onda de 535 nm. O teor de antocianina foi expresso em cianidina-3-glicosídeo na matéria seca, utilizando massa molecular (MM) de 449,2 g/mol e absorvidade molar (ϵ) de 26.900 L.mol⁻¹.cm⁻¹.

5.2.5 Determinação da capacidade antioxidante dos produtos liofilizados

A atividade antioxidante foi avaliada por meio da captura do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico), segundo o método proposto por Re et al. (1999).

Para o preparo do radical, quantidades iguais da solução estoque de ABTS (7mM) e solução de persulfato de potássio (2,45 mM) foram misturadas e armazenadas em vidro âmbar, onde permaneceram sob refrigeração por 16 horas, até o momento da análise.

Em um tubo de ensaio foi adicionado 0,5 mL do extrato dos frutos liofilizados mais 3,5 mL do radical ABTS (Sigma-Aldrich®) e a mistura foi homogeneizada em vórtex. Os tubos permaneceram em repouso por 6 minutos até o momento da leitura.

Após repouso de 6 minutos, foi realizada a leitura da absorbância das amostras por espectrofotometria (BEL PHOTONICS® 2000 UV), em comprimento de onda de 734 nm. A capacidade antioxidante foi determinada utilizando curva padrão de Trolox ((±)-ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, Sigma-Aldrich®) (0-90 mg/L; R² = 0,999) e os

resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de matéria seca ($\mu\text{mols TEAC/ g MS}$).

5.3 Ensaio Biológico

5.3.1 Composição e preparo das dietas experimentais

A composição das dietas experimentais foi baseada na dieta de cafeteria proposta por Milagro et al. (2006), uma dieta hipercalórica e hiperlipídica capaz de induzir a obesidade e o estresse oxidativo. O grupo controle positivo recebeu apenas dieta de cafeteria e os demais grupos experimentais receberam dieta de cafeteria acrescida de 2% de um dos produtos liofilizados (LEITE et al. 2011) (Tabela 1). O controle negativo foi o único grupo que não recebeu dieta de cafeteria, consumindo apenas dieta comercial peletizada (Presence[®]), uma ração balanceada em macro e micronutrientes.

A dieta de cafeteria era composta por ração comercial (Presence[®]), biscoito doce (Marilan[®]), batata-palha (Krok[®]), chocolate ao leite (Harald[®]), bacon (Perdigão[®]) e patê de fígado de galinha. Para o preparo do patê foram utilizados 73,28% de fígado de galinha cozido (Pif Paf[®]) processado com 26,72% de manteiga (Davaca[®]) (Tabela 1). Para o preparo das dietas foi adicionada a mesma quantidade de todos os ingredientes, com exceção do patê de fígado de galinha que foi acrescentado o dobro dos demais. Para as dietas que continham 2% dos frutos liofilizados, foi retirada a mesma quantidade referente a suplementação de cada ingrediente, respeitando a proporção de 1:2. Todos os ingredientes foram triturados individualmente e, ao final, os ingredientes foram misturados em multiprocessador até se tornarem homogêneos.

As dietas foram preparadas semanalmente e acondicionadas em sacos laminados e permaneceram sob refrigeração (5 a 8°C) até o momento da administração aos animais.

Após o preparo das dietas experimentais foram realizadas análises da composição centesimal para caracterização da dieta quanto aos seus valores de proteína, carboidrato, lipídios, umidade (IAL, 2005) e cinzas (AOAC, 1984).

Tabela 1. Composição das dietas experimentais (g/kg)

Ingredientes	Controle negativo	Controle positivo	Jabuticaba	Jambolão	Açaí jussara
Ração comercial	1000	142,85	140	140	140
Biscoito doce	-	142,85	140	140	140
Batata-palha	-	142,85	140	140	140
Chocolate ao Leite	-	142,85	140	140	140
Bacon	-	142,85	140	140	140
Patê de fígado de galinha	-	285,7	280	280	280
<i>Manteiga</i>	-	76,34	74,82	74,82	74,82
<i>Fígado de galinha</i>	-	209,36	205,18	205,18	205,18
Jabuticaba liofilizada	-	-	20	-	-
Jambolão liofilizado	-	-	-	20	-
Açaí jussara liofilizado	-	-	-	-	20

5.3.2 Delineamento Experimental

Foram utilizados 30 camundongos machos, adultos, da raça Swiss (*Albinus musculus*), com seis semanas de vida, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais, com peso inicial de aproximadamente 33 g, foram distribuídos em cinco grupos experimentais (n=6/grupo), de forma a não apresentar grandes variações de peso entre os grupos, em que cada grupo recebeu dieta comercial padrão (controle negativo - CN), ou dieta de cafeteria (controle positivo - CP), ou dieta de cafeteria acrescida de 2% de casca de jaboticaba (JB), jambolão (JM) ou açai jussara liofilizados (AJ) (Tabela 1), por um período de 14 semanas.

Os animais foram mantidos em pares em caixas de polietileno, com temperatura controlada a $21 \pm 2^{\circ} \text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, recebendo água e dieta *ad libitum*. O consumo e o peso corporal dos animais foram monitorados semanalmente. Após o período experimental, foi avaliada a porcentagem de eficiência alimentar da dieta por meio da razão do ganho de peso final (g) pela quantidade total de dieta ingerida (g).

Ao final do período experimental, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e cada animal foi anestesiado com cetamina (60 mg/kg) e xilazina (15 mg/kg) por via intraperitoneal. A retirada do sangue foi realizada por meio do rompimento do plexo braquial e o sangue coletado em microtubos não heparinizados, os quais foram centrifugados a 2500 g, por 15 minutos a 4°C para obtenção do soro. O soro foi transferido para microtubos identificados e armazenado a -80°C até o momento da análise.

Todos os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Espírito Santo, protocolo nº 016/2013 (Anexo 1).

5.3.3 Análise dos parâmetros oxidativos e inflamatórios

A atividade antioxidante total do soro foi determinada por meio de ensaio colorimétrico com auxílio do kit comercial da marca Cayman Chemical Company[®], Ann Arbor, MI, que quantifica tanto compostos antioxidantes hidrossolúveis, quanto lipossolúveis. A leitura das amostras foi efetuada em

comprimento de onda de 750 nm e os resultados foram expressos como milimolar (mM) de Trolox equivalente (TE).

Como indicador de estresse oxidativo foi realizada a dosagem sérica de malondialdeído (MDA), por técnica colorimétrica, utilizando-se kit comercial (BioAssay Systems[®]) pelo método TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances). A leitura das amostras foi efetuada em comprimento de onda de 535 nm e os resultados foram expressos como μM de malondialdeído (MDA) equivalente.

O processo inflamatório foi avaliado por meio da determinação dos níveis de interleucinas (IL-6 e IL-10) e de TNF- α , utilizando-se kits multiplex (MILLIPORE[®]).

5.4 Análises estatísticas

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado. Foi aplicado o teste Kolmogorov–Smirnov para testar a normalidade dos dados e, após a confirmação da normalidade, foi aplicado o teste t para análise dos controles positivo (dieta de cafeteria) e negativo (dieta padrão). Os efeitos dos tratamentos (jabuticaba, jambolão e açaí jussara liofilizados) foram comparados com o grupo controle positivo por meio da aplicação da análise de variância (ANOVA), complementada com teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Todos os resultados foram apresentados em média e desvio padrão. Para a análise estatística dos dados foi utilizado o software GraphPad Prism, versão 5.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal dos frutos está apresentada na Tabela 2. A jabuticaba foi o fruto que apresentou maior umidade após o processo de liofilização, assim como maiores teores de cinzas. O liofilizado da casca de jabuticaba e do açaí jussara apresentaram maiores teores de proteínas, sendo que o açaí jussara também apresentou maiores concentrações de lipídios em comparação aos demais liofilizados. Quanto à concentração de carboidratos, o jambolão foi o liofilizado com maiores porcentagens desse macronutriente.

Tabela 2. Composição centesimal da casca da jabuticaba, jambolão e açaí jussara liofilizados

	Jabuticaba	Jambolão	Açaí jussara
Umidade (%)	11,81 ^a ± 0,29	9,75 ^b ± 0,45	5,32 ^c ± 0,05
Proteína (%)	7,57 ^a ± 0,85	2,98 ^b ± 0,34	6,18 ^a ± 0,31
Lipídios (%)	1,35 ^b ± 0,17	1,04 ^b ± 0,09	26,71 ^a ± 1,44
Carboidratos (%)	74,28 ^b ± 1,14	82,77 ^a ± 0,84	58,11 ^c ± 1,69
Cinzas (%)	4,99 ^a ± 0,43	3,46 ^b ± 0,21	3,68 ^b ± 0,04

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representa diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A composição centesimal pode variar em decorrência das características ambientais onde o fruto foi cultivado, como Borges et al (2011) demonstraram em um estudo com diferentes cultivares de açaí. Estes autores observaram que a maior variação na composição dos frutos são nos teores de lipídios (18,45 a 44,08%), proteínas (5,13 a 8,21%) e cinzas (1,55 a 3,32%). Castro et al. (2014) corroboram esta variação ao liofilizarem o açaí jussara e encontraram valores de 8,45% de umidade, 49,35% de lipídios, 42,86% de carboidratos e 5,28% de proteína. De forma semelhante, Leite-Legatti et al. (2012) ao avaliarem a casca da jabuticaba liofilizada encontraram valores de 1,72% de lipídios, 15,33% de umidade, 4,89% de proteína e 3,53% de cinzas.

Os frutos liofilizados diferiram-se estatisticamente ($p \leq 0,05$) quanto à concentração de compostos fenólicos, antocianina e atividade antioxidante (Tabela 3). O liofilizado da casca da jabuticaba foi o que apresentou maiores concentrações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, seguidos pelo açaí jussara e jambolão. Por outro lado, o açaí jussara foi o que apresentou maiores valores de antocianinas, sendo acompanhados pela jabuticaba e jambolão.

Rufino et al (2010) ao avaliarem a concentração de antocianina nesses mesmos frutos, sem passar pelo processo de liofilização, encontraram valores de 0,41 g/100 g MS para casca de jabuticaba, 0,62 g/100 g MS para o jambolão e 1,96 g/100 g MS para o açaí jussara, sendo esses valores inferiores aos encontrados neste estudo para o liofilizado da casca da jabuticaba e jambolão e superior aos encontrados no açaí jussara. Quanto aos compostos fenólicos totais, esses autores encontraram valores de 35,84 mg GAE/g MS para a casca de jabuticaba liofilizada, 11,17 mg GAE/g MS para o jambolão liofilizado e 56,72 mg GAE/g MS para o açaí jussara liofilizado, os quais foram superiores aos encontrados no presente estudo, com exceção da casca da jabuticaba. A capacidade antioxidante encontrada por Rufino et al (2010) também foi superior aos encontrados neste estudo, com teores de 125 $\mu\text{mols Trolox/ g MS}$ para o jambolão e 606 $\mu\text{mols Trolox/ g MS}$ para o açaí jussara, com exceção da jabuticaba que obteve valores inferiores, de 317 $\mu\text{mols Trolox/ g MS}$.

Apesar de o açaí jussara possuir maiores concentrações de antocianinas em comparação à casca da jabuticaba, a concentração de compostos fenólicos totais da casca da jabuticaba foi maior, o que justifica sua maior capacidade antioxidante. Isso se deve ao fato da casca de jabuticaba ser rica em outros compostos fenólicos com características antioxidantes, a exemplo da quercetina, isoquercetina, quercimeritrina, quercitrina, rutina, miricitrina, ácido cinâmico, ácido O-cumárico, ácido gálico, ácido elágico, entre outros (REYNERTSON et al., 2006; ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2012; COSTA et al., 2013).

Tabela 3. Caracterização dos frutos liofilizados quanto aos compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e antocianina em base seca

	Jaboticaba	Jambolão	Açaí jussara
Antocianina (g cianidina-3-glicosídeo/100g)	1,22 ^b ± 0,01	0,91 ^c ± 0,00	1,80 ^a ± 0,01
Atividade antioxidante (µmols Trolox/g)	786,24 ^a ± 35,44	71,58 ^c ± 8,69	408,05 ^b ± 23,49
Compostos fenólicos totais (mg de AGE/g)	95,32 ^a ± 1,71	8,17 ^c ± 1,14	47,84 ^b ± 2,74

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representa diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 4. Composição centesimal das dietas experimentais ofertadas aos animais

	Controle negativo	Controle positivo	Jaboticaba	Jambolão	Açaí jussara
Umidade (%)	10,63 ^b ± 0,06	21,71 ^a ± 0,18	21,94 ^a ± 0,26	21,80 ^a ± 0,10	21,96 ^a ± 0,08
Proteína (%)	28,93 ^a ± 0,33	14,06 ^b ± 0,17	14,00 ^b ± 0,45	14,60 ^b ± 0,47	14,14 ^b ± 0,10
Lipídios (%)	2,78 ^b ± 0,37	27,48 ^a ± 0,45	27,97 ^a ± 0,82	27,97 ^a ± 0,31	27,93 ^a ± 0,14
Carboidratos* (%)	49,46 ^a ± 0,58	33,68 ^b ± 0,79	33,06 ^b ± 0,97	32,24 ^b ± 0,71	32,96 ^b ± 0,37
Cinzas (%)	8,20 ^a ± 0,20	3,07 ^b ± 0,16	3,03 ^b ± 0,11	3,39 ^b ± 0,12	3,00 ^b ± 0,22
Calorias (Kcal/ 100 g)	338,59 ^b ± 2,33	438,28 ^a ± 2,01	439,98 ^a ± 3,32	439,06 ^a ± 0,96	439,81 ^a ± 0,56

Dados expressos em média ± DP. Letras diferentes em uma mesma linha representa diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * Carboidratos totais, incluindo fibras.

A diferença na concentração de compostos bioativos entre os frutos deste trabalho e os descritos pela literatura também pode ser explicada pelas diferenças climáticas onde o fruto foi cultivado. Frutos cultivados em locais com alta incidência solar, com altas temperaturas e em altitudes médias apresentam maiores concentrações de compostos fenólicos e antocianinas (BORGES et al. 2011).

A composição centesimal das dietas experimentais está apresentada na Tabela 4. Observa-se que o conteúdo proteico da dieta de cafeteria corresponde a aproximadamente 50% do total proteico da dieta comercial do grupo controle negativo. Por outro lado, a dieta de cafeteria apresenta um conteúdo de lipídios 10 vezes maior que a dieta comercial. Ainda, a dieta de cafeteria apresenta cerca de 30% mais calorias que a dieta comercial. Assim, pode-se inferir que a dieta de cafeteria é hiperlipídica e hipercalórica quando comparada à dieta comercial.

O consumo dos animais experimentais está apresentado na Figura 2. Observa-se que o grupo CN apresentou maior consumo ($p \leq 0,05$), quando comparado ao CP. Por outro lado, o consumo dos demais animais tratados com dieta de cafeteria não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$). Dessa forma, pode-se observar que o fruto não exerceu efeito sobre o volume final ingerido pelos animais durante as 14 semanas experimentais.

Ainda que o CP tenha apresentado menor consumo alimentar, este grupo foi o que totalizou maior ganho de peso durante o experimento em comparação ao CN ($p \leq 0,05$), sendo cerca de 45% superior (Figura 3). Não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$) entre o ganho de peso do CP com os grupos experimentais suplementados com os frutos.

A diferença entre o ganho de peso de CP para o CN se deve ao fato da densidade calórica da dieta de cafeteria ser aproximadamente 30% superior à ração comercial, ao passo que a similaridade calórica entre a dieta de cafeteria e as suplementadas com os frutos justifica a igualdade no ganho de peso final.

O maior ganho de peso dos animais alimentados com a dieta de cafeteria e dieta de cafeteria suplementada pode ser justificado pela maior eficiência alimentar destas em comparação a ração comercial (Figura 4).

Entre as dietas que continham o fruto liofilizado, estima-se que a dieta ofertada ao grupo AJ foi o com maiores concentrações de antocianina (0,38 g de cianidina-3-glicosídeo / 100 g de dieta), seguida por JB (0,24 g de cianidina-3-glicosídeo/ 100 g de dieta) e JM (0,18 g de cianidina-3-glicosídeo/ 100 g de dieta).

O consumo médio de compostos fenólicos entre os grupos suplementados foi de 1,11 mg GAE/dia para JB, 0,09 mg GAE/dia para JM e 0,54 mg GAE/dia para o AJ. Contudo, pode-se observar que os frutos não apresentaram fator protetor contra o ganho de peso, uma vez que não houve diferença estatística entre o ganho de peso dos animais alimentados com os frutos dos animais alimentados com a dieta de cafeteria (Figura 3).

Os dados do presente estudo corroboram os de outros autores que também não observaram diferença estatística no ganho de peso final dos animais experimentais em relação ao grupo controle após a suplementação com 1%, 2% e 4% de casca de jabuticaba liofilizada tanto para ratos Wistar saudáveis (LEITE et al., 2011) quanto para ratos Sprague-Dawley induzidos à obesidade (BATISTA et al., 2014). Resultados semelhantes foram encontrados por Castro et al (2014) ao suplementar a dieta AIN-93M de camundongos ApoE^{-/-} com 2% de açaí jussara liofilizados.

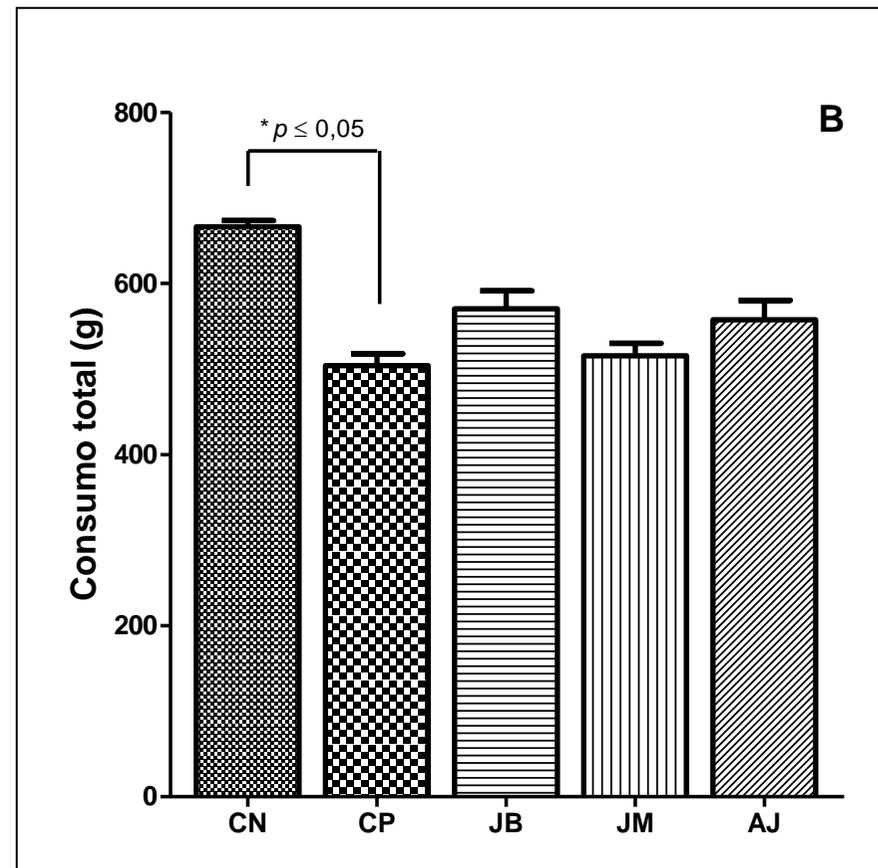
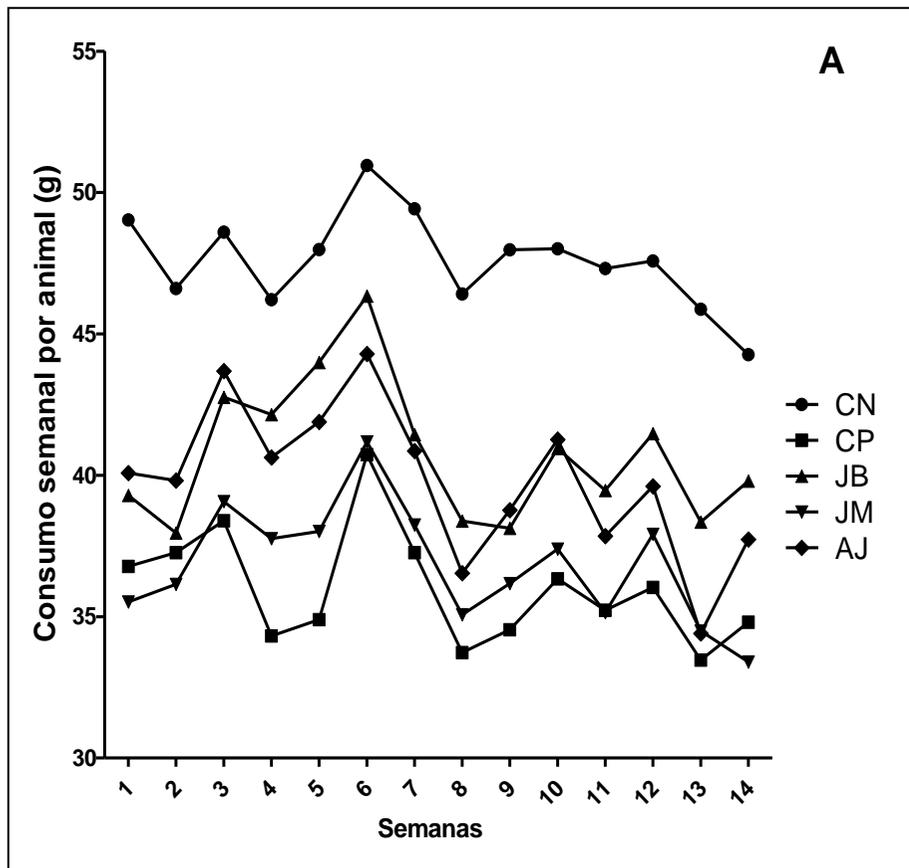


Figura 2. (A) Progressão do consumo dos animais durante todas as semanas experimentais. (B) Média do consumo final de cada grupo testado. Dados do consumo total expressos em média \pm DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com jambolão; AJ: dieta suplementada com açai juçara. *Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ($p \leq 0,05$). Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

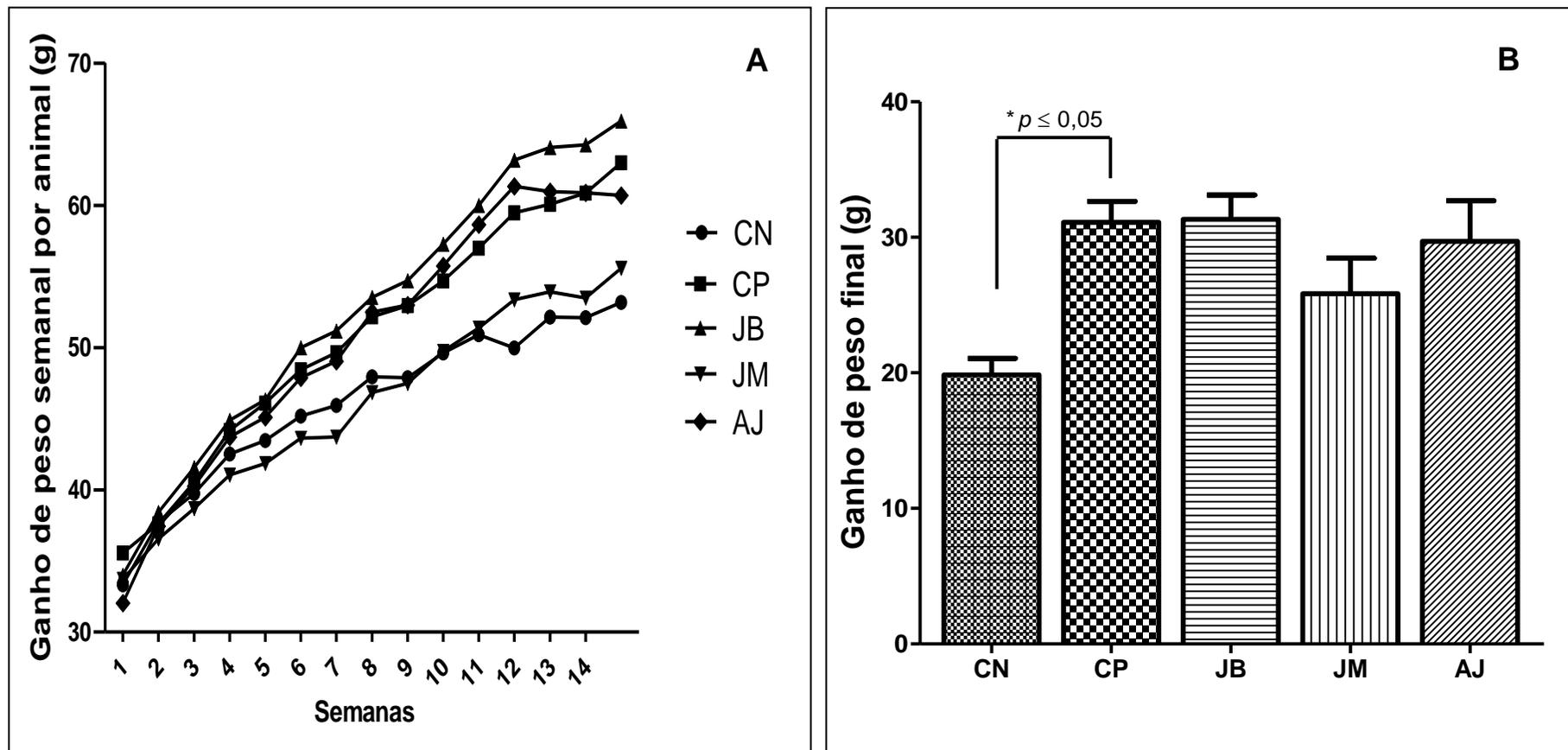


Figura 3. (A) Progressão do ganho de peso dos animais durante todas as semanas experimentais. (B) Média do ganho de peso final de cada grupo testado. Dados do ganho de peso expressos em média \pm DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com jambolão; AJ: dieta suplementada com açai juçara. *Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ($p \leq 0,05$). Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey

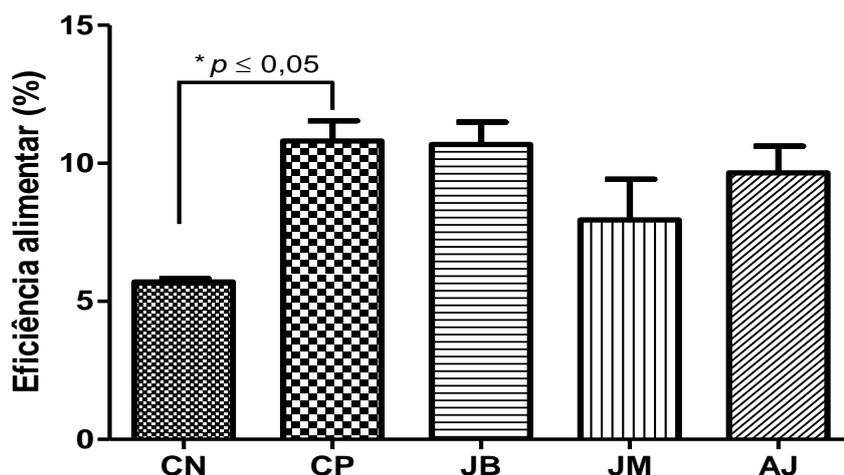


Figura 4. Eficiência alimentar das dietas experimentais. Dados expressos em média \pm DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com jambolão; AJ: dieta suplementada com açai juçara.* Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ($p \leq 0,05$). Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

A atividade antioxidante sérica está apresentada na Figura 5. Observa-se que não houve diferença estatística quanto à atividade antioxidante sérica do CP (1,64 mM TE) para o CN (1,78 mM TE) ($p > 0,05$). Por outro lado, todos os grupos alimentados com os frutos aumentaram a atividade antioxidante sérica, em comparação aos animais induzidos à obesidade não suplementados ($p \leq 0,05$). Não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos suplementados com a casca da jaboticaba (2,04 mM TE), jambolão (2,14 mM TE) e açai jussara (2,28 mM TE).

A melhora na atividade antioxidante observada no soro dos animais é decorrente da alta concentração de polifenóis, como antocianina, quercetina e ácido elágico nos frutos testados (BORGES et al., 2011; CORREIRA et al., 2012; WU et al., 2012). Esses compostos agem diretamente como antioxidante devido à presença de grupos hidroxil em sua estrutura fenólica que permite a transferência de elétrons para um radical livre, estabilizando-o (RICE-EVANS et al., 1996). Os polifenóis também agem de forma indireta na melhora do estresse oxidativo por favorecer o aumento da expressão de enzima com ação antioxidante, como SOD e GPx, por meio da ativação dos fatores de transcrição nuclear *fator-erythroid 2 - related fator 2* (Nf-E2/Nrf2) (CHUANG; MC INTOSH, 2011).

Embora os frutos tenham diferido entre si quanto à capacidade antioxidante *in vitro*. Todos os frutos testados foram capazes de aumentar a atividade antioxidante sérica, *in vivo*, da mesma forma. Isso pode ser devido à diferença na biodisponibilidade dos compostos fenólicos ou de outros compostos bioativos com ação antioxidante, uma vez que a quantidade de compostos bioativos presentes no fruto não reflete, necessariamente, a quantidade absorvida e metabolizada pelo organismo. Características como o peso molecular, estrutura química, vias de metabolização, assim como a matriz alimentar em que esses compostos estão presentes pode ter relação direta com sua biodisponibilidade (MANACH et al., 2004; D'ARCHIVIO et al., 2007).

Outro fator relevante pode ser a diferença na ação antioxidante de cada composto fenólico. Bi et al. (2014), ao avaliar a ação *scavenging*, *in vitro*, de diferentes polifenóis sobre os radicais peróxido de hidrogênio e superóxido encontraram que as antocianinas apresentam maior ação antioxidante que outros compostos fenólicos, como ácido gálico, ácido cumárico, quercetina entre outros.

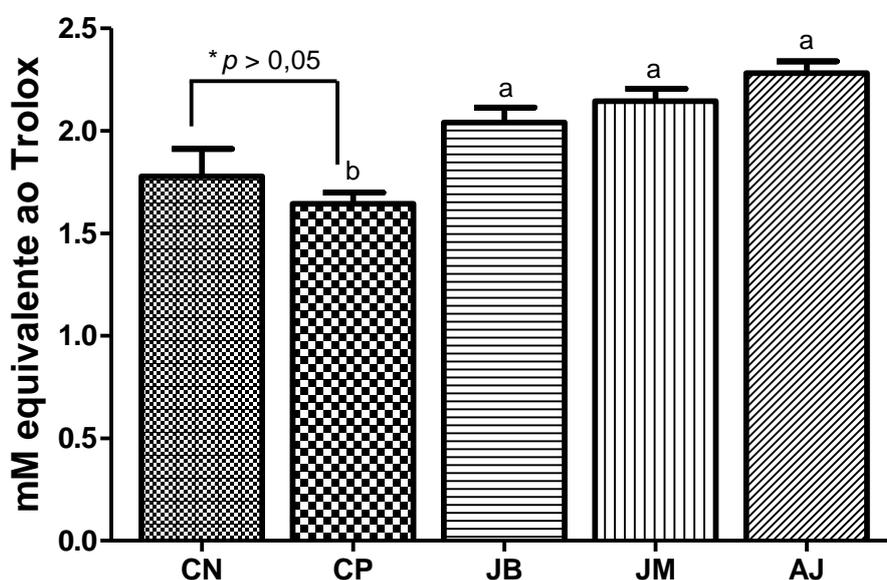


Figura 5. Atividade antioxidante sérica dos animais experimentais. Dados expressos em média \pm DP. CN: controle negativo; CP: controle positivo; JB: dieta suplementada com casca de jaboticaba; JM: dieta suplementada com jambolão; AJ: dieta suplementada com açaí juçara.* Não houve diferença estatística entre CN e CP pelo teste de t ($p > 0,05$). Letras diferentes representam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A Figura 6 apresenta a avaliação da peroxidação lipídica por meio da concentração de equivalente de malonaldeído (MDA) no soro dos animais experimentais. Observa-se que os animais do grupo CP (13,25 μM MDA equivalente) apresentaram maiores níveis de peroxidação lipídica em comparação à CN (12,81 μM MDA equivalente) ($p \leq 0,05$). Apesar dos altos níveis séricos de atividade antioxidante nos animais alimentados com os frutos, não foi observada redução nos níveis séricos de peroxidação lipídica entre JB (12,80 μM MDA equivalente), JM (12,80 μM MDA equivalente) e AJ (13,03 μM MDA equivalente), quando comparados ao CP ($p > 0,05$).

Os dados do presente estudo corroboram evidências da literatura científica, que relatam a associação entre obesidade e peroxidação lipídica (MATTSON, 2009; MURDOLO et al., 2013). Segundo relatos, este fenômeno está relacionado ao aumento na produção de EROS decorrente das mudanças metabólicas na obesidade e da ativação das cascatas de reação de citocinas inflamatórias, como o TNF- α (FRANÇA et al., 2013).

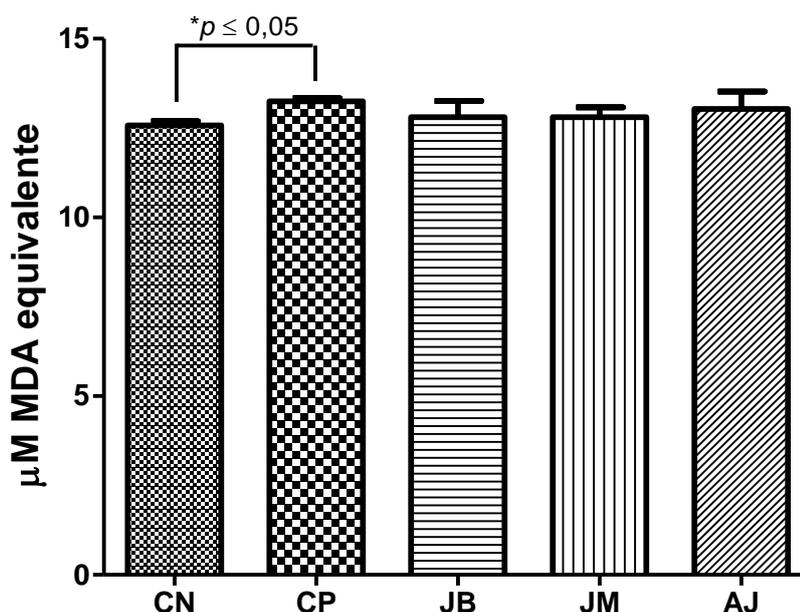


Figura 6. Avaliação da peroxidação lipídica por meio da concentração de equivalente de malonaldeído (MDA) no soro dos animais experimentais. Dados expressos em média \pm DP. . * Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ($p \leq 0,05$). Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

Leite et al. (2011) ao suplementar a dieta de ratos saudáveis com 2% de casca de jabuticaba, observaram aumento de 1,7 vezes na atividade antioxidante plasmática em comparação ao grupo controle pelo método de captura do radical ABTS. Estes autores constataram que a dose ideal seria 23 g de fruto liofilizado em 1 kg de dieta e que, a partir desta concentração, os níveis de atividade antioxidante tendiam a diminuir. No entanto, Batista et al., (2014) encontraram aumento na atividade antioxidante do plasma, fígado, cérebro e rim, mesmo suplementando doses de 2 e 4% de casca de jabuticaba na dieta de ratos induzidos à obesidade. Estes autores observaram apenas redução da peroxidação lipídica hepática e cerebral. Contudo, não observaram redução plasmática da peroxidação lipídica, assim como no presente estudo. Lee, Choi, Seo (2009), embora tenham observado melhora nos níveis de enzimas antioxidantes como, CAT, SOD e GPx, também não observaram melhoras na peroxidação lipídica sérica em ratos alimentados com casca de jabuticaba, somente foi observada redução na peroxidação a nível hepático. Assim, possivelmente a casca da jabuticaba, o jambolão e o açaí jussara possam ter agido no fígado reduzindo o estresse oxidativo.

A suplementação de 2% de açaí jussara liofilizado na dieta de camundongos ApoE^{-/-} não foi eficaz em melhorar o estresse oxidativo hepático e a esteatose hepática (CASTRO et al., 2014). Contrário a estes resultados, a suplementação de 2% de açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea*) durante seis semanas na dieta hipercolesterolêmica de ratas Fischer foi eficaz em aumentar a atividade antioxidante (SOUZA et al., 2010). Xie et al. (2011) ao suplementar doses de 5% de suco de açaí liofilizado na dieta de camundongos ApoE^{-/-}, durante 20 semanas, encontraram redução da peroxidação lipídica, aumento na atividade antioxidante e redução de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6).

A Figura 7 apresenta o perfil inflamatório dos animais experimentais. Os níveis de IL-6 e TNF- α do CP (4,66 pg/ mL e 7,43 pg/ mL, respectivamente) foram superiores aos do CN (2,65 pg/ mL e 2,69 pg/ mL, respectivamente) ($p \leq 0,05$), o que comprova o aumento na inflamação dos animais alimentados com a dieta de cafeteria. Não foi possível observar diferença estaticamente significativa ($p > 0,05$) entre os níveis de IL-6 e TNF- α dos animais induzidos à obesidade não suplementados e os animais do grupo JB (4,19 pg/ mL e 7,23 pg/ mL), JM (4,29 pg/ mL e 5,10 pg/ mL) e AJ (2,16 pg/ mL e 6,17 pg/ mL).

Esses resultados sugerem que a dieta de cafeteria foi eficaz na indução do quadro inflamatório, mas as suplementações com 2% de frutos liofilizados não foram capazes de minimizar o processo inflamatório.

Os níveis séricos de IL-10 também não diferiram estatisticamente entre os grupos CP (1,90 pg/ mL), JB (2,23 pg/ mL), JM (2,26 pg/ mL), e AJ (0,92 pg/ mL) ($p > 0,05$) (Figura 7). Contudo, os níveis séricos de IL-10 de CP foram superiores aos de CN (0,59 pg/ mL) ($p \leq 0,05$).

A literatura relata que a obesidade está associada a um quadro de inflamação sistêmica de baixo grau favorecida pelo aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, e redução nos níveis de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 (BRESSAN et al., 2009; ARSLAN; ERDUR; AYDIN, 2010). Mesmo não observando redução nos níveis de IL-10 no soro dos animais induzidos à obesidade, foi possível observar aumento de citocinas pró-inflamatórias que poderiam trazer prejuízos à saúde dos animais, como resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares (VAN GAAL et al., 2006; MOTHE-SATNEY et al., 2012).

Estes dados corroboram os encontrados por Novoselova et al. (2009), que induziram inflamação em animais experimentais por meio de injeções de lipopolissacarídeo (LPS). Estes autores observaram que o LPS aumentou a concentração de citocinas, tanto pró-inflamatórias (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF, e IFN- γ), quanto anti-inflamatória (IL-10). Este aumento é decorrente da resposta fisiológica adaptativa do organismo para tentar controlar o processo inflamatório.

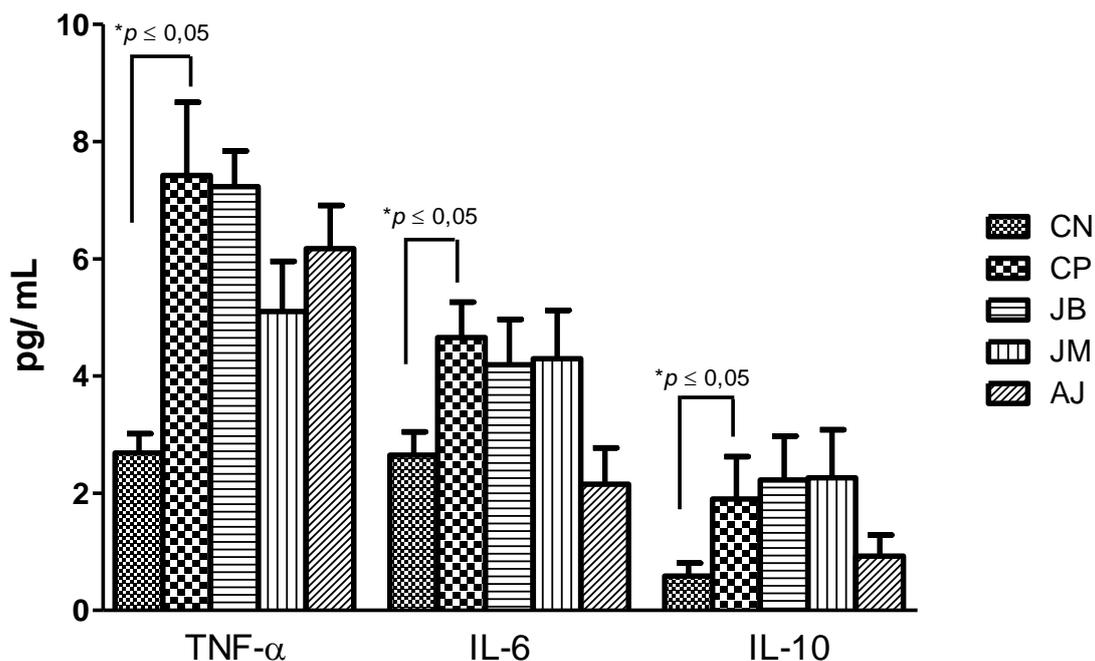


Figura 7. Perfil inflamatório dos animais experimentais. Dados expressos em média \pm DP. * Diferença estatística entre CN e CP pelo teste t ($p \leq 0,05$). Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos CP, JB, JM e AJ pelo teste de Tukey.

Estudos *in vitro* tem demonstrado efeitos anti-inflamatórios após administração de extrato de frutos ricos em antocianinas. Doses de 30-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extrato seco de uva foram capazes de reduzir a expressão de fatores inflamatórios como IL-1 β , IL-6, IL-8 e MCP-1 em adipócitos induzidos a inflamação por LPS (OVERMAN et al., 2010). A melhora da sensibilidade à insulina e inflamação foi observada também após administração de 10-60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extrato seco de uva e 30-60 μM de quercetina. Estes efeitos são decorrentes da inibição da fosforilação de IRS-1, em serina 307, pela redução da expressão de ERK, JNK, NF- $\kappa\beta$, AP-1 (CHUANG et al. 2010; CHUANG et al. 2011).

Noratto et al., (2011), ao administrarem doses superiores aos deste estudo, de 5-10 mg GAE/ L proveniente do extrato de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), observaram redução do estresse oxidativo em células endoteliais vasculares induzidas a inflamação por LPS, por meio da eliminação das espécies reativas de oxigênio (ROS) e indução das enzimas antioxidantes. Foi observado também efeito anti-inflamatório por meio da inibição da expressão

da ativação de NF- κ B, que resultou em redução nos níveis de IL-6, IL-8, e da inibição da tradução de moléculas de adesão como VCAM-1, via expressão do microRNA-126. Kang et al. (2011) observaram que entre os flavonóides presentes no açaí, a velutina é o com maior ação anti-inflamatória (*Euterpe oleracea* Mart.)

Dragano et al. (2013) ao suplementar a dieta hiperlipídica de camundongos Swiss com 1%, 2% e 4% de casca de jabuticaba liofilizada observaram melhora na sensibilização da insulina pela redução nos níveis hepáticos de I κ B- α fosforilada e mRNA de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-1 β), com exceção do grupo suplementado com 2% que não foi observada redução nos níveis de IL-1 β .

Não foram encontrados estudos científicos que tenham avaliado a ação anti-inflamatória e antioxidante, *in vivo*, do jambolão e apenas um estudo que tenha avaliado a ação anti-inflamatória, *in vivo*, do açaí jussara, tal como foi avaliado no presente estudo. Contudo, novas pesquisas ainda devem ser realizadas explorando novas doses de suplementação desses frutos, assim como sua possível toxicidade. Além disso, devem avaliar a ação anti-inflamatória e antioxidante desses frutos em outros órgãos como intestino, fígado e cérebro. A avaliação do intestino torna-se relevante devido à baixa biodisponibilidade dos compostos fenólicos, o que poderia ter maior ação na redução da inflamação induzida por LPS. Avaliar o estresse oxidativo e o processo inflamatório do fígado também se torna relevante dada sua importância metabólica. No cérebro, por sua vez, deve-se avaliar a possível redução do estresse oxidativo e peroxidação lipídica, assim como a redução da inflamação hipotalâmica, que poderia prejudicar o mecanismo de fome/saciedade.

7 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o açaí jussara foi o fruto com maiores concentrações de antocianinas, enquanto a casca da jabuticaba foi o que apresentou maiores concentrações de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro*.

A suplementação com 2% dos frutos liofilizados foram eficazes em aumentar a atividade antioxidante sérica dos animais experimentais alimentados com dieta de cafeteria em relação ao seu grupo controle. Contudo, não foi observada diferença nos níveis de atividade antioxidante sérica entre os animais suplementados com os frutos liofilizados.

Quanto ao perfil inflamatório, não foi observada diferença entre os animais suplementados com os frutos liofilizados e os que receberam apenas a dieta de cafeteria.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, L.T.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.92, n.8, p: 1679-1687, 2012.

ALEZANDRO, M.R.; GRANATO, D.; GENOVESE, M.I. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. **Food Research International**, v.54, n.1, p. 650-659, 2013 a.

ALEZANDRO, M.R., DUBÉ, P; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v.54, n.1, p. 468-477, 2013 b.

ALIKATTE, K.L.; AKONDI, B.R.; YERRAGUNTA, V.G.; VEERAREDDY, P.R.; PALLE, S. Antiamnesic activity of *Syzygium cumini* against scopolamine induced spatial memory impairments in rats. **Brain and Development**, v. 34, n.10, p.844-851, 2012

ANGEL-MORALES, G.; NORATTO, G.; MERTENS-TALCOTT, S. Red wine polyphenolics reduce the expression of inflammation markers in human colon-derived CCD-18Co myofibroblast cells: potential role of microRNA-126. **Food & Function**, v.3, n.7, p.745-752, 2012.

AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. E.U.A. 14th ed. Washington, D.C: 1997.

ARSLAN, N.; ERDUR, B.; AYDIN, A. Hormones and cytokines in childhood obesity. **Indian Pediatrics**, v.47, n.10, p.829-39, 2010.

ARUN, R.; PRAKASH, M.V.D.; ABRAHAM, S.K.; PREMKUMAR, K. Role of *Syzygium cumini* seed extract in the chemoprevention of *in vivo* genomic damage and oxidative stress. **Journal of Ethnopharmacology**, v.134, n.2, p. 329-333, 2011.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P; IGNACIMUTHU, S. *Syzygium cumini* (L.) Skeels., a novel therapeutic agent for diabetes: Folk medicinal and pharmacological evidences. **Complementary Therapies in Medicine**, v.21, n.3, p.232-243, 2013.

BALIGA, M.S.; BHAT, H.P.; BALIGA, B.R.V.; WILSON, R.; PALATY, P.L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (black plum): A review. **Food Research International**, v.44, n.7, p.1776-1789, 2011.

BATISTA, A.G., LENQUISTE, S.A.; CAZARIN, C.B.B.; SILVA, J.K.; LUIZ-FERREIRA, A.; BOGUSZ Jr, S.; WANG-HANTAO, L.; de SOUZA, R.N.; AUGUSTO, F.; PRADO, M.A.; MARÓSTICA Jr, M.R. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, v.6, n.0, p.450-461, 2014.

- BI, X.; ZHANG, J.; CHEN, C.; ZHANG, D.; LI, P.; MA, F. Anthocyanin contributes more to hydrogen peroxide scavenging than other phenolics in apple peel. **Food Chemistry**, v.152, p.205-209, 2014.
- BORGES, G.S.C; F. VIEIRA, F.G.K; COPETTI C.; GONZAGA, L.V.; ZAMBIAZI, R.C.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v.44, n.7, p.2128-2133, 2011.
- BRESSAN, J.; HERMSDORFF, H.H.M.; ZULET, M.A.; MARTÍNEZ, J.A. Impacto hormonal e inflamatório de diferentes composições dietéticas: Ênfase em padrões alimentares e fatores dietéticos específicos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.53, n.5, p.572-581, 2009.
- BRITO, E.S.; ARAUJO, M.C; ALVES, R.E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B.A.; NOVOTNY, J.A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolao, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.23, p.9389-9394, 2007.
- CALDER, P.C. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.77, n.5–6, p.327-335, 2007.
- CAMPIÓN, J., MILAGRO, F.; MARTÍNEZ, J.A. Epigenetics and Obesity. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v.94, p. 291-347, 2010.
- CASTRO, C.A.; NATALI, A.J.; CARDOSO, L.M.; FERREIRA-MACHADO, A.B.; NOVELLO, A.A.; DA SILVA, K.A.; TAFURI, N.F.; DA MATTA, S.L.; PEDROSA, M.L.; PELUZIO, M.C.G. Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. **British Journal of Nutrition**, p.1-10, 2014.
- CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. Seção de economia e desenvolvimento. **Sazonalidade dos produtos comercializados no ETSP**, 2010. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/produtos/epoca/produtos_epoca>. Acesso em: 22/01/2014.
- CHUANG, C.C; MC INTOSH, M.K. Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity-mediated inflammation and metabolic diseases. **Annual Reviews of Nutrition**, v.31, p.155–176, 2011.
- CHUANG, C.C.; MARTINEZ, K.; XIE, GU.; KENNEDY, A.; BUMRUNGPET, A.; OVERMAN, A.; JIA, W.; MCINTOSH, M.K. Quercetin is equally or more effective than resveratrol in attenuating tumor necrosis factor- α -mediated inflammation and insulin resistance in primary human adipocytes. **The American journal of clinical nutrition**, v.92, p.1511–21, 2010.
- CHUANG, C.C.; BUMRUNGPET, A.; KENNEDY, A.; OVERMAN, A.; WEST, T.; DAWSON, B.; MCINTOSH, M.K. Grape powder extract attenuates tumor necrosis factor alpha-mediated inflammation and insulin resistance in primary cultures of human adipocytes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.22, n.1, p.89–94, 2011.

CLERICI, M.T.P.S.; CARVALHO-SILVA, L.B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v.44, n.7, p.1658-1670, 2011.

COSTA, A.G.V.; GARCIA-DIAZ, D.F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P.I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. **Journal of Functional Foods**, v.5. n.2, p.539-549, 2013.

D'ARCHIVIO, M., FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanita**, v.43, n.4, p.348-361, 2007.

DESPRES, J.P.; Lemieux, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nature**, v.444, n.7121, p.881-887, 2006.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science & Technology**, v.35, n.1, p.5-22, 2000.

DRAGANO, N.R., MARQUES, A.; CINTRA, D.E.; SOLON, C.; MORARI, J.; LEITE-LEGATTI, A.V.; VELLOSO, L.A.; MAROSTICA-JUNIOR, M.R. Freeze-dried jaborcaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. **British Journal of Nutrition**, v.110, n.3, p.447-455, 2013.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of food and agriculture: Rome, 2013.

FARIA, A.F., MARQUES, M.C.; MERCADANTE, A.Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v.126, n.4, p.1571-1578, 2011.

FRANÇA, B.K.; MELO-ALVES, M.R.; SILVEIRA-SOUTO, F.M.; TIZIANE, L.; FREIRE-BOAVENTURA, R.; GUIMARÃES, A.; ALVES, A. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v.20, p,199-206, 2013.

FRANCIS, F.J. **Analysis of anthocyanins in foods**. In: MARKAKIS, P. Anthocyanins as Food Colors. New York: Academic Press, p. 181-207, 1982.

GUIMARÃES, D.E.D.; SARDINHA, F.L.C.; MIZURINI, D.M.; CARMO, M.G.T. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista de Nutrição**. v.20, n.5, p.549-559, 2007.

GUO, H.; XIA, M. Anthocyanins and Diabetes Regulation. **Polyphenols in Human Health and Disease**. v.1, p. 83-93, 2014.

HANSEL, B.; GIRAL, P.; NOBECOURT, E.; CHANTEPIE, S.; BRUCKERT, E.; CHAPMAN, M. J.; KONTUSH, A. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.89, n.10, p.4963-4971, 2004.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro, 2006.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo: IMESP, p. 70, 1985.

JAMPANI, C.; NAIK, A.; RAGHAVARAO, K.S.M.S. Purification of anthocyanins from jamun (*Syzygium cumini* L.) employing adsorption. **Separation and Purification Technology**, v.125, n.0, p.170-178, 2014.

KANG, J.; XIE, C.; LI, Z.; NAGARAJAN, S.; SCHAUSS, A. G.; WU, T.; WU, X. Flavonoids from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v.128, n.1, p.152-157, 2011.

KEANEY, J.F.; LARSON, M.G.; VASAN, R.S.; WILSON, P.W.; LIPINSKA, I.; COREY, D.; MASSARO, J.M.; SUTHERLAND, P.; VITA, J.A.; BENJAMIN, E.J. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.23, n.3, p.434-439, 2003.

KOHEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. **Toxicologic Pathology**, v.30, n.6, p.620-650, 2002.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; GARCÍA-PARILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antociânicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n.4, p. 691, 2004.

LAGO, E.S.; GOMES, E.; DA SILVA, R. Produção de geleia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): Processamento, parâmetros físico - Químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.847-852, 2006.

LAU, D.C.; DHILLON, B.; YAN, H.; SZMITKO, P.E.; VERMA, S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v.288, n.5, p.2031-2041, 2005.

LEE, S.J.; CHOI, S.K.; SEO, J.S. Grape skin improves antioxidant capacity in rats fed a high fat diet. **Nutrition Research and Practice**, v.3, n.4, p.279-285, 2009.

LEITE-LEGATTI, A.V., BATISTA, A.G.; DRAGANO, N.R.V.; MARQUES, A.C.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; MACHADO, A.R.T.; CARVALHO-SILVA, L.B.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v.49, n.1, p.596-603, 2012.

LEITE, A.V., MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JUNIOR, M.R. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.6, p.2277-2283, 2011.

LENQUISTE, S.A.; BATISTA, A.G.; MARINELI, R.S.; DRAGANO, N.R.V.; MARÓSTICA JR, M.R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v.49, n.1, p.153-160, 2012.

LORENZI, H. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*). São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LYON, C.J.; LAW, R.E.; HSUEH, W.A. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. **Endocrinology**, v.144, n.6, p.2195-2200, 2003.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.727-747, 2004.

MATTSON, M.P. Roles of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in obesity, the metabolic syndrome, and associated vascular and neurodegenerative disorders. **Experimental Gerontology**, v.44, n.10, p.625-633, 2009.

MILAGRO, F.I.; CAMPIÓN, J.; MARTINEZ, J.A. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. **Obesity**, v. 14, n. 7, p. 1118-23, 2006.

MILANSKI, M.; DEGASPERI, G.; COOPE, A.; MORARI, J.; DENIS, R.; CINTRA, D.E.; TSUKUMO, D.M.; ANHE, G.; AMARAL, M.E.; TAKAHASHI, H. K.; CURI, R.; OLIVEIRA, H. C.; CARVALHEIRA, J.B.; BORDIN, S.; SAAD, M.J.; VELLOSO, L.A. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. **The Journal of Neuroscience**, v.29, n.2, p.359-370, 2009.

MOTHE-SATNEY, I.; FILLOUX, C.; AMGHAR, H.; PONS, C.; BOURLIER, V.; GALITZKY, J.; GRIMALDI, P.A.; FERAL, C.C.; BOULOUMIE, A.; VAN-OBBERGHEN, E.; NEELS, J.G. Adipocytes secrete leukotrienes: contribution to obesity-associated inflammation and insulin resistance in mice. **Diabetes**, v.61, n.9, p.2311-2319, 2012.

MORAES, J.C.; COOPE, A.; MORARI, J.; CINTRA, D.E.; ROMAN, E.A.; PAULI, J.R.; ROMANATTO, T.; CARVALHEIRA, J.B.; OLIVEIRA, A.L.; SAAD, M.J.; VELLOSO, L.A. High-fat diet induces apoptosis of hypothalamic neurons. **PLoS One**, v.4, n.4, p.e5045, 2009.

MURDOLO, G.; PIRODDI, M.; LUCHETTI, F.; TORTOIOLI, C.; CANONICO, B.; ZERBINATI, C.; GALLI, F.; IULIANO, L. Oxidative stress and lipid peroxidation by-products at the crossroad between adipose organ dysregulation and obesity-linked insulin resistance. **Biochimie**, v.95, n.3, p.585-594, 2013.

NGUYEN, T.; LAU, D.C.W. The Obesity Epidemic and Its Impact on Hypertension. **Canadian Journal of Cardiology**, v.28, n.3, p.326-333, 2012.

NOVELLO, AA. Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (*Euterpe edulis* Martius) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE ^{-/-}. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG. 80f, 2011.

- NOVOSELOVA, E.G.; LUNIN, S.M.; NOVOSELOVA, T.V.; KHRENOV, M.O.; GLUSHKOVA, O.V.; AVKHACHEVA, N.V.; SAFRONOVA, V.G.; FESENKO, E.E. Naturally occurring antioxidant nutrients reduce inflammatory response in mice. **European Journal of Pharmacology**, v.615, n.1-3, p.234-240, 2009.
- NORATTO, G.; PORTER, W.; BYRNE, D.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Polyphenolics from peach (*Prunus persica* var. Rich Lady) inhibit tumor growth and metastasis of MDA-MB-435 breast cancer cells in vivo. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.(0). 2014
- OVERMAN, A.; BUMRUNGPET, A.; KENNEDY, A., MARTINEZ, K., CHUANG, C.C.; T WEST, T.; DAWSON, B.; JIA, W.; MCINTOSH, M. Polyphenol-rich grape powder extract (GPE) attenuates inflammation in human macrophages and in human adipocytes exposed to macrophage-conditioned media. **International Journal of Obesity**, v.34, p.800–8, 2010.
- PAULI, J.R. Obesidade e Diabetes: Bases moleculares da etiopatogenia. In: CINTRA, D.E.; ROPELLE, E.R.; PAULI, J.R. *Obesidade e diabetes: fisiopatologia e sinalização celular*. São Paulo: SARVIER, p.74-99, 2011.
- PASCUAL-TERESA, S.; MORENO, D.A; GARCIA-VIGUERA, C. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, n.4, p.1679-1703, 2010.
- PEREZ-ECHARRI, N.; PEREZ-MATUTE, P.; MARCOS-GOMEZ, B.; MARTINEZ, J. A.; MORENO-ALIAGA, M. J. Effects of eicosapentaenoic acid ethyl ester on visfatin and apelin in lean and overweight (cafeteria diet-fed) rats. **British Journal of Nutrition**, v.101, n.7, p.1059-1067, 2009.
- PEREZ-MATUTE, P.; PEREZ-ECHARRI, N.; MARTINEZ, J.A.; MARTI, A.; MORENO-ALIAGA, M.J. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha. **British Journal of Nutrition**, v.97, n.2, p.389-398, 2007.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**. v.26, p.1231-37, 1999.
- REYNERTSON, K.A.; WALLACE, A.M., ADACHI, S.; GIL, R.R.; YANG, H.; BASILE, M.J.; D'ARMIENTO, J; WEINSTEIN, I.B.; KENNELLY, E.J. Bioactive depsides and anthocyanins from jaborcaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v.69, n.8, p.1228-1230, 2006.
- REYNERTSON, K.A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v.109, n.4, p.883-890, 2008.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**, v.20, n.7, p.933-956, 1996.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v.2, n.4, p.152-159, 1997.

- ROH, S. G.; SONG, S.H.; CHOI, K.C.; KATOH, K.; WITTAMER, V.; PARMENTIER, M.; SASAKI, S. Chemerin - a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.362, n.4, p.1013-1018, 2007.
- RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; DE BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, n.4, p.996-1002, 2010.
- SEVERO, J.; DOS SANTOS, R.S.; CASARIL, J.; TIECHER, A.; SILVA, J.A.; ROMBALDI, C.V. Destanização e conservação de frutos de jabolão. **Ciência Rural**. v.40, n.4, p.976-982, 2011.
- SHOELSON, S.E.; Lee, J.; Yuan, M. Inflammation and the IKK beta/I kappa B/NF-kappa B axis in obesity - and diet-induced insulin resistance. **International journal of obesity and related metabolic disorders**, v.27, n.3, p.S49-52, 2003.
- SILVA, M.C.; SOUZA, V.B.; THOMAZINI, M.; SILVA, E.R.; SMANIOTTO, T.; CARVALHO, R.A.; GENOVESE, M.I.; FAVARO-TRINDADE, C.S. Use of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **LWT - Food Science and Technology**, v.55, n.1, p.203-209, 2014.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. v.16, p. 144-158, 1965.
- SOUZA, M.O.; SILVA, M.; SILVA, M.E.; OLIVEIRA, R.P.; PEDROSA, M.L. Diet supplementation with açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v.26, n.7, p.804-810, 2010
- SRIVASTAVA, S.; CHANDRA, D. Pharmacological potentials of *Syzygium cumini*: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, n.9, p.2084-2093, 2013.
- PRINCE, P.S.M, KAMALAKKANNAN, N.; MENON, V.P. *Syzygium cumini* seed extracts reduce tissue damage in diabetic rat brain. **Journal of Ethnopharmacology**, v.84, n.2-3, p.205-209, 2003.
- TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4ª edição. Campinas: UNICAMP. 2006.
- TSUDA, T.; UENO, Y.; KOJO, H.; YOSHIKAWA, T.; OSAWA, T. Gene expression profile of isolated rat adipocytes treated with anthocyanins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1733, n.2-3, p.137-147, 2005.
- TSUKUMO, D.M., CARVALHO-FILHO, M.A.; CARVALHEIRA, J.B.; PRADA, P.O.; HIRABARA, S.M.; SCHENKA, A.A.; ARAUJO, E.P.; VASSALLO, J.; CURI, R.; VELLOSO, L.A.; SAAD, M.J. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. **Diabetes**, v.56, n.8, p.1986-1998, 2007.
- VAN GAAL, L.F.; MERTENS, I.L.; DE BLOCK, C.E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v.444, n.7121, p.875-880, 2006.

VEIGAS, J.M.; NARAYAN, M.S.; LAXMAN, P.M.; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, v.105, n.2, p.619-627, 2007.

WANG, L.; LIM, E.J.; TOBOREK, M.; HENNIG, B. The role of fatty acids and caveolin-1 in tumor necrosis factor alpha-induced endothelial cell activation. **Metabolism**, v.57, n.10, p.1328-1339, 2008.

WHO - World Health Organization. Preventing Chronic Diseases: a Vital Investment: Geneva, 2005.

WHO - World Health Organization. World Health Statistic: Geneva, 2012.

WU, S.B.; DASTMALCHI, K.; LONG, C.; KENNELLY, E.J. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and Other Dark-Colored Fruit Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n.30, p.7513-7525, 2012.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.11, p.4069-4075, 2006.

XIE, C.; KANG, J.; BURRIS, R.; FERGUSON, M.E.; SCHAUSS, A.G.; NAGARAJAN, S.; WU, X. Açai juice attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Atherosclerosis**, v.216, n.2, p.327-333, 2011.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº. 016/2013, relativo ao projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação do potencial anti-inflamatório, antioxidante e antiaterogênico dos frutos da jaboticaba (Myrciaria cauliflora), da palmeira jussara (Euterpe edulis Martius) e do jambolão (Syzygium cumini) em modelos animais.**", que tem como responsável o (a) docente **André Gustavo Vasconcelos Costa**, está de acordo com os princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFES), tendo sido aprovado na reunião ordinária de 17/05/13.

Presidente do
Comitê de Ética no Uso de Animais
CEUA/UFES

Vitória (ES), 20 de maio de 2013.