

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Tese

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE PRODUTOS
DA CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**

CATIA DA SILVA SILVEIRA

Pelotas, 2015

CATIA DA SILVA SILVEIRA
Nutricionista
M. Sc. Engenharia e Ciência de Alimentos

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE PRODUTOS
DA CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia Alimentos.

Orientador: Prof.: Dr. Rui Carlos Zambiasi
Coorientador: Profa. Dra. Elizabete Helbig

Pelotas, 2015

Dados de catalogação na fonte:

Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

S587c Silveira, Catia da Silva

Caracterização físico-química e avaliação biológica de produtos da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) / Catia da Silva Silveira. – 146f. : il. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, 2015. – Orientador Rui Carlos Zambiasi ; co-orientadora Elizabeth Helbig.

1.Castanha-do-Brasil. 2.*Bertholletia excelsa* H.B.K.. 3.Selênio. 4.Colesterol. 5.Ratos. I.Zambiasi, Rui Carlos. II Helbig, Elizabeth III Título.

CATIA DA SILVA SILVEIRA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE PRODUTOS DA
CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data de Defesa:

Banca examinadora:

.....
Prof. PhD. Rui Carlos Zambiasi (Orientador)
Doutor em Food and Nutritional Science pela University of Manitoba - Canadá

.....
Prof^a. Dr^a. Leonor Almeida de Souza Soares
Doutor em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

.....
Prof^a. Dr^a. Josiane Chim
Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas – UFPEL

.....
Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra
Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas – UFPEL

.....
Prof^a. Dr^a. Magna da Glória Silva Lameiro
Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas - UFPEL

Resumo

SILVEIRA, Catia da Silva. **Caracterização Físico-Química e Avaliação Biológica de Produtos da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)** 2015, 146f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

O reconhecimento da composição e resposta biológica da Castanha-do-Brasil e de seus produtos, oriundos de Laranjal do Jari (AP), levou ao desenvolvimento do estudo referente à avaliação dos parâmetros físico-químicos incluindo a composição proximal e teor de selênio na amêndoa (A) e farinha da castanha (F); e o perfil de ácidos graxos e o conteúdo de tocoferóis, compostos fenólicos e carotenóides no óleo comercial da castanha (O). A avaliação biológica ocorreu em 70 dias, em duas fases, na primeira, 60 ratos (Wistar), recém-desmamados foram distribuídos em 5 grupos: Controle (C), com 12 ratos e dieta AIN-93G (7% de óleo de soja); 30 ratos com dieta Hipercalórica (H) (15% de banha suína); e outros 3 grupos, de 6 ratos, que receberam as dietas com produtos de Castanha: dietas F e A (7% lipídios intrínsecos), e dieta O (7% de óleo regional de castanha). As dietas (C) e (H) continham 17% de proteínas e os demais segundo a AIN-93G. Nas duas fases, nas dietas (F), (A) e (O), houve supressão de selênio na mistura mineral. Na segunda fase, de 35 dias, as dietas seguiram a AIN-93M (12% de proteína), e os ratos remanescentes, 6 da dieta (C), permaneceram com a mesma dieta (7% de óleo de soja); e os 24 ratos da dieta (H) foram reagrupados (n=6) em quatro dietas Hipercalóricas - 15% de lipídios - HB (15% da banha suína); HA e HF (8% de banha suína e 7% de lipídio intrínseco) e HO (8% de banha suína e 7% de óleo de castanha). Ao final de cada etapa, os órgãos, coração, fígado e rins foram avaliados em relação ao peso corporal. O sangue foi coletado e determinados os níveis de glicose (Gli), colesterol total (CT) e frações, triacilgliceróis (TG) e proteínas totais (PT). A função hepática foi avaliada pelas determinações séricas de enzimas (LABTEST, 1999). O selênio das dietas, plasma e fígado foi determinado por espectrometria de emissão atômica. Análises histológicas dos órgãos foram realizadas por microscopia ótica e eletrônica. Amêndoa e farinha apresentaram, respectivamente, lipídios totais, $60,66 \pm 0,61 \text{ g.100g}^{-1}$ e $46,40 \pm 1,34 \text{ g.100g}^{-1}$ e selênio, $43,5 \pm 0,70 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ e $41,5 \pm 1,10 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$. Os ácidos graxos oléico (29,83%) e linoléico (42,36%) predominaram no óleo. Foram identificados teores apreciáveis de tocoferóis totais ($193,60 \pm 4,41 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), α tocoferóis ($52,24 \pm 0,85 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), γ tocoferóis ($141,37 \pm 3,56 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), compostos fenólicos ($189,0 \pm 1,46 \text{ mgGAE.100g}^{-1}$) e carotenóides ($35,67 \pm 1,30 \text{ mg de } \beta\text{-caroteno.Kg}^{-1}$). Nas duas etapas, houve ganho de peso e CEA adequados, assim como aumento dos níveis de selênio no plasma e fígado dos animais com as dietas contendo F e A, além de alteração das provas de função hepática e presença de lipídios nos hepatócitos dos alimentados com dietas experimentais. Na primeira etapa, houve manutenção do CT e PT, redução de VLDL-C e TG. A segunda etapa manteve os padrões de normalidade séricas de LDL-C, HDL-C e PT, diminuição de glicose, VLDL-C e TG. O estudo indica a utilização de amêndoa, farinha e óleo da Castanha-do-Brasil como suplemento alimentar, de forma equilibrada.

Palavras-chave: castanha-do-brasil, *bertholletia excelsa* H.B.K.; selênio; colesterol; ratos

Abstract

SILVEIRA, Catia da Silva. **Physical-Chemical Characterization and Biological Evaluation of products of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). (*Bertholletia excelsa*).** 2015, 146f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

The recognition of the chemical composition and biological response of Brazil nut and its products, originating from the Laranjal do Jari region (AP), was the reason of this study. Such study refers to the assessment of physical and chemical parameters including the proximal composition and selenium content in almond (A) and Brazil nut flour (F); and the fatty acid profile and the tocopherols, carotenoids and total phenolic compounds content in commercial oil of Brazil nut (O). For biological evaluation, an experiment was carried out in two steps in 70 days. In the first step in 21 days, 60 rats (Wistar) weaned were divided into 5 groups: control (C) using diet AIN-93G (7% soybean oil) for 12 rats; Hypercaloric diet (H) (15% of swine fat) for 30 rats and other 3 groups of 6 rats were fed with diets containing Brazil nut products: (F) and (A) diets (7% intrinsic lipids) and (O) diet (7% of regional Brazil nut oil). (C) and (H) diets contained 17% protein based on the AIN-93G. In both phases, (F), (A) and (O) diets, there was suppression of selenium in the mineral mix. In the second step involving 35 days, the diets followed AIN-93M (12% protein) and the last six rats of (C) diet remained on the same diet (7% soybean oil); and 24 mice of (H) diet were grouped ($n = 6$) in four high fat diet - 15% lipids- HB (swine lard 15%); HA and HF (8% and 7% lard swine intrinsic lipid) and HO (8% of swine fat and 7% nut oil). At the end heart, liver and kidneys were evaluated in relation to body weight. Blood was collected and levels of glucose (G) and serum total cholesterol (TC) and fractions, triglycerides (TG) and total protein (TP) were obtained. Liver function by determinations of serum enzymes (LABTEST, 1999), direct and indirect bilirubin, and albumin were analyzed. Also, selenium diets, plasma and liver by atomic emission spectrometry; histological analyzes of the bodies by light and electron microscopy were evaluated. Almond and almond flour presented, respectively, total lipids, $60.66 \pm 0.61 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ and $46.40 \pm 1.34 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ and selenium, $43.5 \pm 0.70 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ and $41.5 \pm 1.10 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$. Appreciable levels of total tocopherols ($193.60 \pm 4.41 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), α tocopherol ($52.24 \pm 0.85 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), γ tocopherols ($141.37 \pm 3.56 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), phenolic compounds ($189.0 \pm 1.46 \text{ mgGAE.}100\text{g}^{-1}$) and carotenoids ($35.67 \pm 1.30 \text{ mg-}\beta \text{ caroteno.kg}^{-1}$) have been identified. In both steps, there was weight gain and adequate CEA, as well as increased selenium levels in plasma and liver of animals with diets containing F and A, and change in liver function tests and the presence of lipids in hepatocytes from fed experimental diets. In the first step, there was maintenance of the CT and PT, reduced VLDL-C and TG. The second step was the normal standard serum LDL-C, HDL-C and E, reduced glucose, VLDL-C and TG. The study indicates the use of almonds, almond flour and oil from the Brazil nuts as a food supplement in a balanced way.

Key words: brasil nut, *bertholletia excelsa* H.B.K.; selenium; choleterol; rats

Lista de Figuras

Figura 3.1	Fluxograma operacional do experimento.....	91
Figura 3.2	Fígado de animais alimentados com dieta Controle. Hepatócitos. Núcleo (N), membrana citoplasmática (seta preta), canalículo biliar (seta branca), L (Lipídeo), mitocôndria (M).....	119
Figura 3.3	Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica. Hepatócito apresentando acentuado aumento das gotículas de gordura.....	119
Figura 3.4	Fígado de animais alimentados com dieta Farinha. Hepatócito apresentando aumento das gotículas de gordura.....	119
Figura 3.5	Fígado de animais alimentados com dieta Óleo. Hepatócito apresentando substancial aumento das gotas lipídicas e acentuado aumento das cisternas do RER (retículo endoplasmático rugoso).....	119
Figura 3.6	Fígado de animais alimentados com dieta Amêndoa. Hepatócito apresentando aumento das gotículas de gordura.....	119
Figura 3.7	Fígado de animais alimentados com dieta Controle. Hepatócito. Núcleo (N), retículo endoplasmático rugoso (seta preta), retículo endoplasmático liso (*).....	133
Figura 3.8	Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica. Hepatócito apresentando acentuado aumento das gotículas de gordura.....	133
Figura 3.9	Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica Farinha. Hepatócito com gotículas de gordura, discreta proliferação de REL (retículo endoplasmático liso) e presença de corpos residuais.....	133

Figura 3.10	Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica Óleo. Hepatócito apresentando aumento de gotículas de gordura e discreta proliferação de REL.....	133
Figura 3.11	Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica Amêndoa. Hepatócito apresentando aumento gotículas de gordura e discreta proliferação de REL.....	133

Lista de Tabelas

Tabela 1.1	Quantidade de Castanha-do-Brasil produzida no Brasil, região norte e Amapá de 2003 a 2013.....	17
Tabela 1.2	Composição proximal e valor energético da amêndoa da Castanha-do-Brasil.....	18
Tabela 1.3	Composição proximal e valor energético da farinha de Castanha-do-Brasil.....	19
Tabela 1.4	Composição percentual relativa de ácidos graxos na Castanha-do-Brasil.....	20
Tabela 1.5	Composição aminoacídica da amêndoa da Castanha-do-Brasil.....	21
Tabela 1. 6	Teores de minerais na Castanha-do-Brasil.....	22
Tabela 1.7	Teores de selênio na Castanha-do-Brasil.....	23
Tabela 1.8	Tocoferóis, carotenóides e compostos fenólicos no óleo de Castanha-do-Brasil.....	27
Tabela 2.1	Parâmetros de operação ICPOES.....	68
Tabela 2.2	Composição proximal e conteúdo de selênio na amêndoa e farinha de Castanha-do-Brasil.....	73
Tabela 2.3	Composição de ácidos graxos no óleo de Castanha-do-Brasil.....	76
Tabela 2.4	Caracterização físico-química da Castanha-do-Brasil.....	78
Tabela 2.5	Compostos bioativos no óleo da Castanha-do-Brasil.....	79
Tabela 3.1	Padrão de dietas experimentais para ratos em crescimento (AIN-93G) e manutenção de peso (AIN-93M), conforme Reeves <i>et al.</i> (1993), utilizada no ensaio biológico.....	93
Tabela 3.2	Dietas experimentais da primeira fase (AIN-93G).....	94
Tabela 3.3	Dietas experimentais da segunda fase (AIN-93M).....	95

Tabela 3.4	Formulação de dietas experimentais para ratos em crescimento (AIN-93G), conforme Reeves <i>et al.</i> (1993), utilizada no ensaio biológico na primeira fase	96
Tabela 3.5	Formulação de dietas experimentais para manutenção de peso de ratos (AIN-93M), conforme Reeves <i>et al.</i> (1993), utilizada no ensaio biológico na segunda fase.....	97
Tabela 3.6	Mistura mineral para ratos em crescimento (AIN-93G) e manutenção de peso (AIN-93M), conforme Reeves <i>et al.</i> (1993), utilizada no ensaio biológico.....	98
Tabela 3.7	Mistura vitamínica para ratos em crescimento (AIN-93G) e manutenção de peso (AIN-93M), conforme Reeves <i>et al.</i> (1993), utilizada no ensaio biológico.....	100
Tabela 3.8	Composição proximal da amêndoa e farinha de Castanha-do-Brasil.....	100
Tabela 3.9	Parâmetros de operação do ICPOES.....	104
Tabela 3.10	Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de ratos submetidos as dietas experimentais na primeira fase.....	106
Tabela 3.11	Consumo diário total em função de macronutrientes ingeridos nas diferentes dietas na primeira fase experimental.....	107
Tabela 3.12	Massa do fígado, rins e relação hepatossomática e dos rins dos animais alimentados com as diferentes dietas experimentais na primeira fase.....	108
Tabela 3.13	Perfil lipídico de ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase.....	109
Tabela 3.14	Níveis séricos de triacilgliceróis, proteínas e glicose sanguínea no soro de ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase.....	112

Tabela 3.15	Concentração de selênio no plasma e no fígado de ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase.....	114
Tabela 3.16	Concentração de indicadores de função hepática no soro dos ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase.....	117
Tabela 3.17	Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de ratos submetidos as dietas experimentais na segunda fase.....	121
Tabela 3.18	Consumo diário total em função de macronutrientes ingeridos nas diferentes dietas na segunda fase experimental.....	122
Tabela 3.19	Massa do fígado, rins e relação hepatossomática e dos rins dos animais alimentados com as diferentes dietas experimentais na segunda fase.....	123
Tabela 3.20	Perfil lipídico de ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase.....	125
Tabela 3.21	Níveis séricos de triacilgliceróis, proteína e glicose sanguínea no soro de ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase.....	127
Tabela 3.22	Concentração de selênio no plasma e no fígado de ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase.....	128
Tabela 3.23	Concentração de indicadores de função hepática no soro dos ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase.....	131

Sumário

1.0	INTRODUÇÃO GERAL.....	13
CAPÍTULO I	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
1.1	Castanha-do-Brasil.....	15
1.1.1	Produção.....	15
1.1.2	Composição química.....	17
1.1.3	Compostos bioativos.....	23
1.1.4	Estabilidade físico-química.....	27
1.2	Influências dos nutrientes na saúde.....	29
1.2.1	Consumo de nozes e castanhas.....	29
1.2.2	Importância nutricional de macro e micronutrientes.....	31
1.2.3	Resposta biológica a diferentes tipos de fontes lipídicas na dieta.....	43
1.2.4	Modelos biológicos.....	44
	REFERÊNCIAS.....	46
CAPÍTULO II	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FITOQUÍMICA DE PRODUTOS DA CASTANHA-DO-BRASIL (<i>Bertholletia excelsa</i> H.B.K.).....	63
1.0	INTRODUÇÃO.....	63
2.0	MATERIAIS E MÉTODOS.....	65
2.1	Infraestrutura.....	65
2.2	Matéria-prima.....	65
2.3	Determinação do peso da amêndoa.....	66
2.4	Determinação proximal da amêndoa e da farinha.....	66
2.5	Determinação de selênio.....	67
2.6	Caracterização do óleo da amêndoa.....	69

2.7	Conteúdo de compostos bioativos.....	70
2.8	Análises estatísticas dos resultados.....	72
3.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
3.1	Caracterização proximal e de selênio na amêndoa e farinha da Castanha-do-Brasil.....	72
3.2	Ácidos graxos do óleo de Castanha-do-Brasil	75
3.3	Parâmetros de identidade e qualidade do óleo da Castanha-do-Brasil.....	77
3.4	Compostos bioativos do óleo da Castanha-do- Brasil.....	78
4.0	CONCLUSÃO.....	80
	REFERÊNCIAS.....	81
CAPÍTULO III	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE PRODUTOS DA CASTANHA-DO-BRASIL (<i>Bertholletia excelsa</i> H.B.K.)..	86
1.0	INTRODUÇÃO.....	86
2.0	MATERIAIS E MÉTODOS.....	88
2.1	Infraestrutura.....	88
2.2	Matéria-prima.....	88
2.3	Ensaio biológico.....	89
2.3.1	Dietas.....	91
2.3.1.1	Composição proximal da amêndoa, farinha e dietas.....	91
2.3.1.2	Preparo das dietas.....	92
2.3.2	Eutanásia dos animais.....	101
2.3.3	Determinação do Coeficiente de Eficácia Alimentar.....	101
2.3.4	Massa do fígado, rins e coração.....	101
2.3.5	Relação da massa do fígado e dos rins.....	102
2.3.6	Análises bioquímicas do sangue.....	102
2.3.7	Análises histológicas dos órgãos.....	102
2.4	Determinação de selênio.....	103

2.5	Análises Estatísticas.....	104
3.0	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	105
3.1	Primeira fase experimental.....	105
3.1.1	Consumo alimentar e ganho de peso na primeira fase	105
3.1.2	Massa de órgãos e relação do peso do fígado e rins pelo peso corporal na primeira fase.....	108
3.1.3	Avaliação bioquímica na primeira fase.....	109
3.1.4	Testes de função hepática na primeira fase.....	117
3.1.5	Avaliação anatomo-histológica na primeira fase.....	118
3.2	Segunda fase experimental.....	120
3.2.1	Consumo alimentar e ganho de peso na segunda fase	120
3.2.2	Massa de órgãos e relação do peso do fígado e rins pelo peso corporal na segunda fase.....	123
3.2.3	Avaliação bioquímica na segunda fase.....	124
3.2.4	Testes de função hepática na segunda fase.....	130
3.2.5	Avaliação anatomo-histológica na segunda fase.....	132
4.0	CONCLUSÃO.....	135
5.0	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	137
	REFERÊNCIAS.....	138
	ANEXOS.....	145

1. INTRODUÇÃO

O estado do Amapá está situado no extremo norte do Brasil, e em 2013, contava com aproximadamente 734.996 mil habitantes, localiza-se na faixa Amazônica que apresenta viabilidade de utilização da biodiversidade de matérias-primas de origem vegetal, mineral e animal.

No Amapá, encontra-se uma diversidade de fontes alimentares, e dentre elas a Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), cuja produção no ano de 2013, foi de 38.300 toneladas, com 95,8 % na região norte do país (36.704 toneladas) e 4,2 % na região Centro-Oeste (1596 toneladas). Na região norte, o Acre foi o principal produtor, com 37,0 % do total ofertado, seguido pelo Amazonas com 32,1 %, Pará com 24,6 %, Rondônia com 4,6 %, Amapá com 1,2 % e Roraima com 0,5 %. No Amapá houve um aumento de 2,8 % na produção em relação a 2012, onde Vitória do Jari produziu 242 toneladas, Mazagão 120 toneladas e Laranjal do Jari 76 toneladas.

A cidade de Laranjal do Jarí, está situada na latitude 01°07'12" S e longitude 52°00'00" W. No período de 2003 a 2013 apresentou uma redução de 86 % da produção da Castanha-do-Brasil, onde muitos fatores contribuíram para esta redução, no entanto, o reconhecimento da qualidade da Castanha-do-Brasil e dos produtos que dela se originam, podem contribuir para que novas iniciativas sejam desencadeadas para melhoria da produção na região e promoção do desenvolvimento local.

A Castanha-do-Brasil apresenta um alto valor comercial em decorrência do aproveitamento da amêndoa na produção de óleo e farinha. Na amêndoa são identificados conteúdos de 15,6 % de proteína e 61,0 % de lipídeos, com representação majoritária de ácidos graxos insaturados (86,2 %) e deste total, 34,7 % são de ácido linoléico. Na porção protéica, uma de suas principais características é a presença da excelsina, fração da albumina, o que a qualifica como um alimento reconhecido como carne vegetal.

Castanhas provenientes do estado do Amapá apresentaram teores em média de 120 ppm de selênio, representando para um indivíduo de 70 kg o consumo de meia castanha para obter a quantidade diária de selênio recomendada. O selênio no organismo está envolvido na biossíntese da ubiquinona e da adenosina trifosfato mitocondrial, assim como nos mecanismos do sistema imune. É encontrado em

concentrações elevadas no córtex renal, pâncreas, hipófise e fígado.

No caso de doenças crônicas, como aterosclerose, câncer, artrite, cirrose e enfisema, há fortes indícios de que o selênio atue como elemento protetor.

A castanha é reconhecida pelo alto potencial nutritivo; no entanto sua utilização no Brasil como ingrediente na elaboração de alimentos e no consumo *in natura* é muito reduzida, sendo que cerca de 90% de sua produção é exportada.

Em função do sabor agradável e valor nutricional, sugestiona-se a incorporação ao cotidiano alimentar da população brasileira e neste sentido estudos vem sendo realizados.

Estes estudos incluem a comparação qualitativa de extratos solúveis de Castanha-do-Brasil com alimentos infantis, evidenciando elevados teores de metionina, tanto no extrato como na castanha, demonstrando-se adequada para utilização em fórmulas infantis; a obtenção de extrato e farinha de Castanha-do-Brasil, apresentando viabilidade de utilização; a elaboração de bebida mista de extrato de soja integral e Castanha-do-Brasil, com caracterização química e nutricional, bem como teste de aceitabilidade, demonstrando viabilidade, quando da utilização de 40 % de extrato de Castanha-do-Brasil na bebida mista; a extração e fracionamento de óleo de Castanha-do-Brasil, sendo constatado potencial de utilização no preparo de cremes vegetais como substituto parcial de gorduras hydrogenadas e obtenção de gorduras para a formulação de alimentos mais seguros; e na identificação das potencialidades, em função da qualidade microbiológica e físico-química do óleo, farinha e amêndoa da Castanha-do-Brasil, demonstrando qualidade nutricional que a qualifica para uso como alimento funcional.

Lacunas no reconhecimento das propriedades da Castanha-do-Brasil, oriunda da região do Laranjal do Jari (AP) a qualificam como um alimento a ser estudado sob o ponto de vista físico-químico, buscando identificar seus componentes específicos e associá-los com possíveis efeitos biológicos em ratos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus Norvegicus*), alimentados com dietas à base de produtos da Castanha-do-Brasil.

Para tanto o trabalho foi estruturado em três capítulos: (I) Revisão bibliográfica sobre Castanha-do-Brasil; (II); Estudo físico-químico da Castanha-do-Brasil e de seus produtos e (III) Avaliação biológica em ratos da linhagem *Wistar* de dietas normocalóricas e hipercalóricas a base de Castanha-do-Brasil e seus produtos.

CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Castanha-do-Brasil

1.1.1 Produção

A Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) pertencente à família Lecitidáceas, é uma espécie arbórea, que pode atingir mais de 50 metros de altura (BONELLI *et al.*, 2001; SOUZA, CARTAXO e LEITE, 2004), com frutificação ocorrendo entre 8 e 12 anos, mas pode produzir frutos a partir de 3,5 anos (MULLER *et al.*, 1995). O fruto da castanheira (ouriço) apresenta formato esférico, possui casca dura e lenhosa, pode conter de 15 a 24 sementes, possui de 3 a 5 cm e tem coloração branca à amarelada coberta por uma película marrom (LOCATELLI *et al.*, 2005).

A produção deste fruto é totalmente extrativista, ocorrendo no período de chuvas no inverno amazônico, que vai normalmente de dezembro a junho, sendo o segundo produto de extrativismo vegetal não madeireiro. Os castanhais ocorrem em regiões de clima quente e úmido, em áreas de terra firme, não suportando as terras alagadas ou de grande retenção de água (MULLER, 1981). Sua área de distribuição geográfica estende-se pelos Estados do Maranhão, Mato Grosso, Pará, Acre, Rondônia, Amapá, Roraima e Amazonas (ARAÚJO *et al.*, 1984), e em países vizinhos como Venezuela, Bolívia, Peru, Colômbia e Guianas (CAVALCANTE, 1991).

O nome Castanha-do-Brasil é uma homenagem aos pesquisadores que a descreveram em 1808, Humboldt, Bonpland e Kunth. No Brasil ainda recebe as seguintes denominações: Castanha-do-Maranhão, Castanha-do-Pará, Iniá, Niá, Nhá, Eray, Tocay, Tucá, Turuny, Yá e Yuvia, e fora do país, almendras, noce del Brazile, paranuss, Brazil nuts, Para Nuts, Nigger To, Noix du Bresil, Noix du Para, Chataigne du Bresil e Nuez de Brazil (ENRÍQUEZ; SILVA e CABRAL, 2003). Porém a partir do decreto lei nº 51.209/1961, para fins comerciais, passou a ser denominada de Castanha-do-Brasil.

Na região sul do estado do Amapá, o programa Castanha-do-Brasil, permitiu a organização de produtores em redes, com parceria entre o governo estadual e produtores cooperados, na forma de cooperativas (COMARU, COMAJA,

COOPERALCA e ASTEX-MA). O programa Castanha-do-Brasil instituído no estado do Amapá está associado às comunidades rurais e tem como desafio melhorar as condições de vida por meio de extração sustentável de produtos florestais. Assim, objetiva reduzir o êxodo rural, combater a pobreza pela geração de emprego e renda e desta maneira contribuir para a promoção da cidadania das comunidades tradicionais do estado, desempenhando assim, um papel extremamente importante na economia do estado (CAMPOS e FILOCREÃO, 2014).

Os produtos da Castanha-do-Brasil são largamente utilizados na alimentação humana. A Cooperativa de Produtores e Extrativistas do Rio Iratapuru (COMARU), produz biscoito à base de castanha e extrai o óleo da castanha. A Cooperativa Mista dos Produtores Agroextrativistas da Reserva do Rio Jarí (COMAJA) beneficia a Castanha-do-Brasil, retira a semente do fruto, desidrata, faz seleção conforme o tamanho da semente e embala para exportação, produzindo ainda óleo e farinha. A Cooperativa de Produtores do Alto Cajari (COOPERALCA), mais ao norte do estado no município de Mazagão, trabalha com a secagem da amêndoa e a Associação dos Trabalhadores do Assentamento Agroextrativista de Maracá (ASTEX-MA) articula e organiza os trabalhadores extrativistas do município de Mazagão (CAMPOS e FILOCREÃO, 2014).

No estado do Amapá em 1995, o poder público comprou toda a produção dos castanheiros, para utilização da castanha como complemento alimentar na merenda escolar das escolas estaduais da cidade de Macapá (FUJIWARA e NELSON, 2002), prática que voltou a ocorrer em 2011.

Os principais países que importaram a Castanha brasileira em 2010 (BRASIL, 2010) foram Bolívia (4.730.780 kg), Estados Unidos (1.692.419 kg), Hong Kong (904.814 kg) e Peru (543.664 kg). Os estados brasileiros que exportaram Castanha-do-Brasil, no mesmo período foram: Acre (44.719.498 kg), Amazonas (32.466.560 kg), Pará (33.134.735 kg), Roraima (1.574.148 kg), Mato Grosso (424.607 kg), Amapá (136.975 kg) e São Paulo (56.303 kg).

Entre 2003 a 2013, segundo o IBGE (2013), o Brasil produziu 370.036 toneladas, peso líquido, de Castanha-do-Brasil, fresca ou seca com casca. Na tabela 1.1 estão dispostas as quantidades produzidas no Brasil e região norte no período, especificando ainda a quantidade produzida no estado do Amapá e em cidades do referido estado.

Tabela 1.1- Quantidade de Castanha-do-Brasil produzida no Brasil, região norte e Amapá de 2003 a 2013

Descrição	Quantidade (kg) - Ano										
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Brasil	24894	27059	30975	28806	30406	30815	37467	40357	42152	38805	38300
Norte	24562	26674	30602	28332	29930	29384	35941	38879	39917	37267	36704
Amapá	1048	1106	860	917	847	519	390	447	401	426	438
Laranjal do Jari - AP	547	587	420	441	390	63	68	76	70	74	76
Mazagão -AP	299	273	201	224	188	145	116	148	110	116	120
Vitória do Jari -AP	202	245	239	253	269	311	206	224	220	236	242

Fonte: IBGE – Produção Extrativista Vegetal – PEVS, 2013

1.1.2 Composição química

A Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) apresenta um alto valor comercial em decorrência do aproveitamento da amêndoa para a produção de óleo e farinha. A Castanha-do-Brasil apresenta 75 % de ouriço e 25 % de sementes, sendo que deste último, 12 % representado pela casca e 13 % pela amêndoa (MULLER, 1981).

A composição da amêndoa da castanha aponta os lipídeos como componentes majoritários, com quantidade apreciável de proteínas e carboidratos, o que confere à amêndoa um valor energético considerável sob o ponto de vista nutricional. É descrita como alimento de alta densidade energética, sendo que possivelmente o nível de saciedade propiciado pela castanha se deva à sua composição lipídica (ST-ONGE, 2005), fibras e proteínas (BRENNAN *et al.*, 2010), reduzindo assim o consumo energético de outras fontes.

De acordo com Kirkmeyer e Mattes (2000) o consumo de nozes, que são alimentos de alta energia ricos em ácidos graxos insaturados, tem um efeito de saciedade que suprime a fome e os limites da ingestão de outros alimentos com alta densidade energética. Esse mesmo mecanismo explica por que as pessoas que consomem nozes frequentemente diminuem o ganho de peso.

Mattes e Dreher (2010) e Fernandes (2011), afirmam que a ingestão de sementes comestíveis e de nozes também provoca sensação de saciedade, sobretudo por causa do conteúdo considerável de proteínas e fibras desses alimentos, além da necessidade de mastigação intensa durante o consumo destas.

Fernandes (2011), citando Casas-Agustench *et al.* (2009) considera que os autores sugerem que a ingestão de sementes comestíveis e de nozes está associada com o aumento do gasto energético ou termogênese.

Diante das considerações citadas anteriormente, se entende que a Castanha-do-Brasil apresenta um quantitativo expressivo de lipídeos, proteínas e carboidratos, o que confere a amêndoa deste fruto, um valor energético substancial sob o ponto de vista nutricional (Tabela 1.2). Em alguns parâmetros observa-se grande variabilidade dos dados, o que pode estar associado as diferenças no grau de maturação, condições climáticas no período da produção e colheita, condições do solo, manuseio pós colheita, dentre outros.

Tabela 1.2 - Composição proximal e valor energético da amêndoa da Castanha-do-Brasil

Descrição (g.100g ⁻¹)*	Autores				
	Cooperativa Agro- Extrativista de Xapuri-AC (2000)	Menezes e Souza (2004)	Ferreira <i>et al.</i> (2006)	Felberg <i>et al.</i> (2009)	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos -TACO (2011)
Umidade	4,40	3,13	3,15	-	3,50
Proteína	17,00	14,20	15,60	14,35	15,00
Lipídeos	67,00	67,30	61,00	70,62	63,00
Carboidratos	7,00	3,42	17,12	11,61	15,00
Fibras	-	8,02	7,79	2,45	7,90
Cinzas	3,60	3,84	3,13	3,42	3,40
Valor Calórico (kcal.100g⁻¹)	751,00	676,56	680,20	-	643,00

* Valores expressos em base seca; - não analisado.

Na tabela 1.3 são apresentados dados da composição centesimal da farinha da Castanha-do-Brasil. Como se pode constatar, o quantitativo de macronutrientes é variável, em função do grau de extração do óleo das amêndoas, o que influencia significativamente na composição lipídica deste produto, e consequentemente na proporção de outros nutrientes.

O descascamento manual da Castanha-do-Brasil provoca danos mecânicos na amêndoa, em função da casca ser constituída de material muito endurecido, desta forma após descascamento é realizada a separação das amêndoas intactas e quebradas. As amêndoas quebradas de castanha são utilizadas na indústria de alimentos, com a finalidade de extração lipídica e aproveitamento de seus resíduos, que tem alto teor de proteínas, fibras e selênio, dentre outros constituintes importantes para a nutrição humana (YANG, LIU e HALIM, 2009).

Tabela 1.3 - Composição proximal e valor energético da farinha de Castanha-do-Brasil

Descrição (g.100g ⁻¹)*	Autores					
	Menezes e Souza (2004)	Ferreira <i>et al.</i> (2006)	Choen (2006)	Santos <i>et al.</i> (2010)	Medeiros <i>et al.</i> (2010)	Santos (2011)
Umidade	6,70	6,80	2,61	4,31	-	3,19
Proteína	40,23	28,34	36,41	45,92	14,97	18,58
Lipídeos	25,13	19,17	35,71	26,09	68,60	67,32
Carboidratos	3,37	39,63	6,25	3,25	9,43	7,60
Fibras	15,72	18,32	12,05	17,14	5,50	-
Cinzas	8,85	6,06	6,97	3,29	2,10	3,32
Valor Calórico (kcal.100g¹)	400,60	444,41	-	-	715,00	710,60

* Valores expressos em base seca; - não analisado.

De acordo com Venkatachalam e Sathe (2006), o conteúdo de lipídeos da Castanha-do-Brasil é cerca de 66 %. Cabe enfatizar que devido a natureza altamente poliinsaturada de lipídeos da castanha-do-Brasil, há uma suscetibilidade à instabilidade oxidativa. Na tabela 1.4 são apresentados dados da distribuição de ácidos graxos na castanha, evidenciando um quantitativo de ácidos graxos oléico e linoléico muito expressivo.

Chunhieng *et al.*, (2008), citam que o óleo de Castanha-do-Brasil tem uma boa proporção de ácidos graxos insaturados (75,6 %), quando comparado ao óleo de oliva (83 %). O elevado teor em ácido linoleico (39,3 %) e ácido linolênico (36,1 %) fornecem a este óleo características nutricionais interessantes. De acordo com Gutierrez, Regitano-D Arce e Rauen-Miguel (1997) a Castanha-do-Brasil em função de suas características lipídicas, tem sido utilizado como óleo fino de mesa e na formulação de cosméticos. Quanto aos ácidos graxos saturados, a predominância é ácido palmítico (C16 : 0) e esteárico (C18 : 0)(YANG, 2009).

Tabela 1.4 - Composição percentual relativa de ácidos graxos na Castanha-do-Brasil

Ácidos Graxos (%)	Autores					
	Venkatachalam Sathe (2006)	Chunhieng et al., (2008)	Yang, Liu e Halim (2009)	Silva; Ascheri e Souza (2010)	Robbins et al. (2011)	Fernandes (2011)
Capróico (C6:0)	0,14	-	-	-	-	-
Cáprico (C10:0)	0,05	-	-	-	-	-
Hendecanóico(C11:0)	0,11	-	-	-	-	-
Láurico (C12:0)	-	0,20	-	-	-	-
Mirístico(C14:0)	0,05	0,20	0,06	-	-	0,04
Palmítico(C16:0)	15,10	13,00	13,50	13,33	14,71	14,15
Palmitoleico (C16:1)	0,29	0,20	0,40	-	0,29	-
Margárico (C17:0)	0,08	-	0,22	-	-	0,06
Esteárico (C18:0)	9,51	11,00	12,00	10,78	9,79	7,99
Oléico (C18:1)	28,75	39,30	29,10	36,21	38,36	33,66
Linoléico (C18:2)	45,43	36,10	43,00	38,28	36,84	43,77
Linolênico (C18:3)	0,18	-	0,20	-	-	-
Araquídônico (C20:0)	0,25	-	0,54	1,40	-	0,09
Gadoléico (C20:1)	-	-	0,21	-	-	-
Behênico (C22:0)	0,06	-	0,12	-	-	-
Erúcico (C22:1)	-	-	0,34	-	-	-
Lignocérico (C24:0)	-	-	-	0,04	-	0,09
Nervônico (C24:1)	-	-	-	-	-	0,07
Total de Insaturados	74.65	75,60	73,50	74,49	75,5	77,57
Total de Saturados	25.35	24,40	26,50	25,51	24,5	22,43

- não analisado.

Quanto aos teores proteicos, estudos evidenciam que a amêndoa da Castanha-do-Brasil é uma excelente fonte de proteína vegetal (CARVALHO e ZORTHÉA, 2001), sendo sua principal proteína, a albumina, denominada de excelsina por Osborne (1918). De acordo com Chaves (1967), no aminograma de proteínas da castanha-do-Brasil, e principalmente, nas globulinas, teores apreciáveis de arginina, leucina, fenilalanina e metionina são encontrados. Na tabela 1.5, são apresentados dados de aminogramas que estabelecem o teor de aminoácidos apresentados por autores no período de 1976 a 2010 e verifica-se que os valores

encontrados, quando comparados aos teores encontrados no ovo, evidenciam a potencialidade de utilização como fonte de proteína na alimentação humana.

A prensagem da amêndoa da castanha produz como produto o óleo e um resíduo, o qual se denomina torta (GLÓRIA e REGITANO D'ARCE, 2000). A torta desengordurada da castanha contém elevado teor de proteínas (60 - 80 %), apresentando, portanto, viabilidade para obtenção de concentrado e isolado protéico (ROTENBERG e ICHAN, 1975).

Conforme Menezes e Souza (2004) a proteína da amêndoa e a da torta da Castanha-do-Brasil são ricas em todos os aminoácidos essenciais com elevado teor de sulfurados (metionina e cisteína), sugerindo sua mistura a outras matérias-primas com o objetivo de enriquecimento em qualidade e quantidade proteica.

Tabela 1.5 - Composição aminoacídica da amêndoa da Castanha-do-Brasil

Aminoácidos g/100g de proteína	Amêndoa da Castanha-Do-Brasil					Ovo
	Autores					
	Srur (1976)	Camargo (1986)	Menezes e Souza (2004)	Chunhieng, <i>et al.</i> (2004)	Silva; Ascheri e Souza (2010)	Sgarbieri (1996)
Lisina	1,00	2,72	4,53	2,50	3,99	6,90
Glicina	2,03	2,78	5,72	8,80	-	-
Alanina	1,49	2,29	4,32	6,20	-	-
Valina	1,66	3,33	5,12	6,30	4,99	6,80
Metionina	2,82	2,70	7,12	2,40	6,95	3,30
Isoleucina	1,19	2,13	3,09	4,00	2,91	6,22
Leucina	3,28	4,54	8,58	7,90	8,98	8,70
Tirosina	1,01	1,46	3,23	2,40	-	-
Fenilalanina	1,49	2,50	4,90	3,80	-	5,70
Histidina	0,79	2,31	3,11	1,80	-	-
Arginina	5,32	8,26	17,30	11,80	-	-

*Resultados expressos em g.100 g⁻¹; - não analisado.

Segundo Chunhieng *et.al.* (2004) as proteínas presentes na Castanha, são classificadas em albuminas, globulinas e glutelinas. As albuminas contêm maior quantidade de selênio, presente principalmente na forma de selenometionina e selenocisteína, além de conterem níveis consideráveis de cobre, ferro e manganês. Estes elementos ocorrem em menores concentrações nas globulinas e glutelinas, exceto o manganês que ocorre em maior teor nas glutelinas (NAOZUKA e OLIVEIRA, 2005).

A Castanha-do-Brasil também é reconhecida como fonte rica em minerais, especialmente o selênio, desta forma sendo considerada uma boa fonte alimentar, a

ser consumida com moderação Chunhieng *et al.* (2008). Na tabela 1.6 estão dados da composição em minerais da Castanha-do-Brasil e na tabela 1.7 são apresentados os conteúdos de selênio.

De acordo com Dumont *et al.* (2006), fontes de origem animal (peixes e crustáceos) são mais ricos em selênio (de 200 a > 1000 ng Se g⁻¹ de peso úmido) que fontes de origem vegetal (<10 ng Se g⁻¹ de peso úmido); exceto em alguns produtos como a Castanha-do-Brasil e algumas espécies de cogumelos, que atingem mais de 5000 ng Se g⁻¹ de peso úmido.

Tabela 1. 6 - Teores de minerais na Castanha-do-Brasil

Minerais*	Autores				
	Gonçalves <i>et al.</i> (2002)	Felberg <i>et al.</i> (2009)	Silva, Ascheri e Souza (2010)	Suliburska e Krejpcio (2011)	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos -TACO (2011)
Fósforo	564,50	721,25	563,00	-	853,00
Cálcio	206,75	159,04	205,03	170,30	-
Magnésio	312,50	381,90	310,10	221,20	-
Potássio	514,75	717,25	512,70	-	651,00
Zinco	7,10	4,72	6,90	2,40	4,20
Manganês	6,86	1,34	5,99	-	1,10
Cobre	1,17	2,22	1,35	-	1,79
Ferro	-	2,82	9,30	2,20	2,30
Sódio	-	0,14	-	-	1,00
Alumínio	-	0,81	-	-	-
Cobalto	-	0,10	-	-	-
Cromo	-	0,05	-	-	-

* Valores expressos em base seca, em mg.100 g⁻¹; - não analisado.

A Castanha-do-Brasil pode ter até 20 mg.g⁻¹ de selênio por grama (FRAGA, 2005), a Ingestão Dietética Recomendada (*Recommended Dietary Allowance/RDA*) de selênio (55 µg/dia) para homens e mulheres adultos é baseada na quantidade necessária para maximizar a atividade da enzima glutathione peroxidase (AMAYA-FARFAN, DOMENE e PADOVANI, 2001), enquanto que o valor do Limite Superior Tolerável de Ingestão (UL) de 400 µg/dia foi fixado devido ao risco de selenose (WHANGER, 2004) e os níveis plasmáticos indicativos de deficiência são abaixo de

70-90 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (LEMIRE *et al.*, 2012). Em 2006, foi referido que o consumo de alimentos contendo menos de 0,1 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de selênio, resultaria em deficiência, ao passo que o consumo regular daqueles contendo mais do que 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$ poderia resultar em toxicidade, conforme a quantidade ingerida (DUMONT, VANHAECKE e CORNELIS, 2006).

Tabela 1.7- Teores de selênio na Castanha-do-Brasil

Valores	Amostras	Procedência	Autores
0,003 a 3,17	162	Norte do Brasil	Chang, Gutenmann e Lisk (1995)
0,2	-	Acre	Menezes e Souza (2004)
0,18 a 32,08	40	Belém e Manaus	Freitas <i>et al.</i> (2004)
2,41 a 4,05	9	Belém	Freitas <i>et al.</i> (2004)
0,45	15	Pará	Freitas <i>et al.</i> (2006b)
0,85	8	Acre	Freitas <i>et al.</i> (2006a)
0,85 a 6,97	80	Amazônia	Pacheco e Scussel (2007)

* Valores expressos em base seca, em mg.100 g^{-1} , - não apresentado.

Segundo trabalho realizado por Freitas *et al.* (2008), sobre o conteúdo de selênio na Castanha-do-Brasil com ou sem casca, no período de 1978 a 2006, foi constatado que o percentual de castanhas que poderia conter mais de 400 μg de selênio/castanha foi de 5,24 %, enquanto que o percentual de castanhas que apresentava menos de 55 μg de selênio/castanha foi de 25,53 %.

1.1.3 Compostos bioativos

Nos alimentos de origem vegetal são encontrados compostos com atividade biológica ativa, os quais têm potencial ação funcional, causando assim benefícios à saúde, a exemplo de isoprenoides, compostos fenólicos, ácidos graxos, aminoácidos essenciais, fibras, entre outros. Estes compostos exercem funções importantes sob o ponto de vista biológico, como atividade antioxidante, modulação de enzimas de detoxificação, estimulação do sistema imune, redução da agregação plaquetária, atividade antibacteriana e antiviral, além de outras (SIRÓ *et al.*, 2008).

De acordo com Zimmermann e Kirsten (2008) os principais nutrientes com papel antioxidante, que podem evitar ou diminuir complicações cardiovasculares e complicações diabéticas, são o ácido ascórbico (vitamina C), o β -caroteno, o α -tocoferol, os flavonóides, o zinco e o selênio. Silva *et al.* (2010) afirmaram que a ingestão continuada de alimentos com alto conteúdo de carotenóides e compostos fenólicos em geral está associada à prevenção de diversos tipos de doenças degenerativas.

Os carotenóides são tetraterpenóides de 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula. A cadeia poliênica pode ter de 3 a 15 duplas ligações conjugadas, sendo que o comprimento do cromóforo determina o espectro de absorção e a cor da molécula. Todas são baseadas em 7 diferentes grupos terminais, dos quais somente 4 [β (beta), ϵ (épsilon), κ (kappa) e ψ (psi)] são encontradas em carotenóides presentes em vegetais superiores. Eles se dividem em: carotenos (compostos somente de carbono e oxigênio) e xantofilas (apresentam substituintes com oxigênio, como hidroxilas, grupos ceto e epóxi) (FRASER e BRAMLEY, 2004). A ocorrência se dá em tecidos fotossintéticos (folhas verdes) e não fotossintéticos (frutas, raízes de vegetais, etc.). Estes compostos são responsáveis pelas cores do amarelo ao vermelho, e utilizados comercialmente como corantes alimentícios e em suplementos nutricionais (MALDONADO-ROBLEDO *et al.*, 2003). Os carotenóides desempenham um papel fundamental na manutenção da saúde, sendo reconhecidos os benefícios contra o câncer, doenças do coração e degeneração macular (DELGADO, JIMÉNEZ e PAREDES-LÓPES, 2000).

Carotenóides como o β -caroteno, licopeno, zeaxantina e luteína, exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoprotéicas (SIES e STAHL, 1995). O β -caroteno e outros carotenóides foram reconhecidos no século XX como as principais fontes de vitamina A. O licopeno é um dos mais potentes antioxidantes presentes em produtos de tomate e que previne a oxidação do LDL, reduz o risco do desenvolvimento de arteriosclerose e a carcinogênese, por proteger moléculas como lipídeos, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), proteínas e DNA (AGARWAL e RAO, 2000).

Os compostos fenólicos constituem um dos maiores e mais presentes dos fitoquímicos. Eles podem ser divididos em mais de dez tipos com base na sua estrutura química (LIU, 2004). Compostos fenólicos compartilham uma estrutura

química comum e diferem em suas ligações com outros compostos. Todos os compostos fenólicos possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila.

A maioria dos compostos fenólicos contém um resíduo de açúcar, como um monossacarídeo, dissacarídeo, ou oligossacarídeo, ligados ao esqueleto de carbono. Outros resíduos incluem aminas, ácidos orgânicos, carboxílicos ácidos e lipídeos. Os compostos fenólicos atuam como antioxidantes, em função da capacidade em doar hidrogênio ou elétrons, e em função de seus radicais intermediários estáveis que impossibilitam a oxidação de ingredientes presentes no alimento, a exemplo dos lipídeos (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSSET, 1995).

Embora os polifenóis sejam quimicamente caracterizados como compostos com características estruturais fenólicas, este grupo de produtos naturais é altamente diversificado e contém vários subgrupos de compostos fenólicos. Frutas, legumes, cereais integrais e outros tipos de alimentos e bebidas, como chá, chocolate e vinho são fontes ricas em polifenóis. A alta ingestão destes produtos alimentícios tem sido associada a riscos reduzidos de muitas doenças crônicas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, inflamação crônica e muitas doenças degenerativas (TSAO, 2010).

Estudos apontam que muitas dessas doenças estão relacionadas ao estresse oxidativo ocasionadas por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Conforme Wang, Cao e Prior (1996) fitoquímicos, especialmente polifenóis, são o contribuinte predominante para o total de atividades antioxidantes de frutas, ao invés de vitamina C, além de apresentarem propriedades farmacológicas, como anti-alergênicas e anti-inflamatórias (MANACH, MAZUR e SCALBERT, 2005).

Os compostos fenólicos ainda podem regenerar antioxidantes primários como ácido ascórbico, tocoferol e β -caroteno (HUBER; HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2009).

De acordo com Yang, Liu e Halim (2009), em estudo realizado com amendoim e nozes, incluindo a Castanha-do-Brasil, foi observado que quanto maior o conteúdo de fenóis totais nestes substratos, maior o poder antioxidante. Esta afirmação é reforçada por Tsao (2010) que reafirma que os polifenóis são fortes antioxidantes que complementam e contribuem para atividade de vitaminas antioxidantes e enzimas, como uma defesa contra o estresse oxidativo causado por excesso de espécies reativas de oxigênio.

Os tocoferóis consistem de um núcleo básico constituído por dois anéis, um fenólico e outro heterocíclico, ligados a uma cadeia lateral saturada formada por 16 carbonos. Dependendo do número e posição de grupos metila ligados ao anel aromático, os tocoferóis se apresentam como quatro compostos homólogos, denominados α (alfa), β (beta), γ (gama) e δ (delta) tocoferol (ADHIKARI *et al.*, 2008). Estes compostos apresentam atividade antioxidante nos óleos vegetais, protegem os ácidos graxos insaturados da oxidação lipídica e no organismo humano apresentam atividade biológica de vitamina E.

No que se refere à atividade de vitamina E, o α -tocopherol, é a forma mais comum, e apresenta a mais alta atividade biológica (100 %), enquanto o β -tocopherol tem atividade biológica intermediária (50 %), seguido do γ -tocopherol (26 %) e do δ -tocopherol (10 %) (SHAHIDI e NACZK, 1995).

A deficiência de vitamina E tem sido associada com anormalidades neurológicas, distúrbios em abetalipoproteinemia e má absorção de gordura. Distrofia induzida experimentalmente indica que a vitamina E na dieta pode desempenhar um papel importante no sistema nervoso central em relação à estabilidade da membrana e na função fisiológica (CHUNHIENG *et al.*, 2008).

No que se refere ao quantitativo de tocoferóis, o azeite de oliva tem um alto teor de α -tocopherol (84,2 %) em comparação a 11,3 % encontrado no óleo de Castanha-do-Brasil. Quando comparado o conteúdo de γ -tocopheróis na Castanha-do-Brasil (0,4 %), azeite de oliva (10,5 %) e no óleo de nozes (88,0 %), verifica-se que o quantitativo deste tocoferol na castanha é muito pequeno (CHUNHIENG *et al.*, 2008), o que não significa inatividade deste antioxidante.

No estudo realizado por Funasaki *et al.* (2013), com óleo de Castanha-do-Brasil de diferentes regiões da Amazônia, foi verificado que o teor de tocoferóis não apresentou uma variação muito grande, logo, os autores indicaram que o perfil de tocoferol do óleo deste fruto, pode ser utilizado como um marcador para a autenticidade e detecção de qualidade do óleo de Castanha-do-Brasil. Na tabela 1.8 são apresentados os teores de tocoferóis, carotenóides e fenóis encontrados no óleo de Castanha-do-Brasil.

Tabela 1.8 - Tocoferóis, carotenóides e compostos fenólicos no óleo de Castanha-do-Brasil

Componentes						Autores
Tocoferóis ¹				β Caroteno ²	Compostos Fenólicos totais ³	
Tocoferóis totais	α tocoferol	β tocoferol	γ tocoferol			
108,80	48,00	-	-	12,30	-	Miraliakbari e Shahidi (2008) ⁴
128,50	381,00	-	-	62,50	-	Miraliakbari e Shahidi (2008) ⁵
-	82,90	-	116,20	-	-	Yang (2009)
-	-	-	-	-	169,20	Yang, Liu, e Halim (2009)
-	-	-	-	-	106,00	Abe, Lajolo, Genovese (2010)
204,70	54,40	0,30	146,30			Robbins et al. (2011)
234,26	74,48	-	159,78	-	-	Manicoré 1 - AM
144,80	37,92	-	106,88	-	-	Manicoré 1 - AM
161,46	45,52	-	115,94	-	-	Rio Preto - AM (Funasaki et al., 2013)
180,19	53,96	-	126,23	-	-	São João - RR
213,64	59,13	-	154,51	-	-	Caroebe - RR
184,07	54,71	-	129,36	-	-	Belém - PA
225,70	53,90	-	171,80	-	-	Xapuri - AC

*Resultados expressos em: ¹ $\mu\text{g.g}^{-1}$; ² mg/kg e ³ mg/100g ; ⁴ Solvente hexano; ⁵ Solvente cloroformio metanol. - não analisado.

1.1.4 Estabilidade físico-química

No que tange a estabilidade da castanha, foi relatado por Yokoya *et al.* (1971) que as amêndoas de castanhas podem ser armazenadas com segurança em ambientes com umidade relativa inferior a 70 %, por um período de 8 meses, sem que ocorram alterações indesejáveis. Segundo Yokoya *et al.* (1970) as castanhas descascadas e armazenadas em ambiente com umidade relativa superior a 80 %, em temperatura de 26°C a 28°C, apresentaram crescimento fúngico em sua superfície e aumento de acidez do óleo proporcional ao crescimento dos micélios.

A temperatura também aparece como um fator condicionante da estabilidade da castanha (YIN e SATHIVEL, 2010), pois em estudos realizados por Baggio, Regitano-D'arce e Ribeiro (1993), as castanhas congeladas (-15°C), e refrigeradas (2°C), com e sem casca, atingiram o 4º mês com valores bem próximos, 4,0 % e 3,0 % de umidade, respectivamente. Observou-se no estudo, que a redução da temperatura de armazenamento contribuiu para a manutenção da qualidade das castanhas em casca e descascadas por pelo menos 4 meses.

Cabe ressaltar que as nozes da Castanha-do-Brasil são protegidas da luz e umidade quando estão com a casca e que estas assim, podem ser convenientemente armazenadas por um longo período (BLOMHO *et al.*, 2006). Deve-se considerar que a película que envolve os grãos é rica em compostos fenólicos que conferem uma proteção contra danos oxidativos (LÓPEZ-URIARTE *et al* 2009).

Em estudo realizado por Zajdenweg *et al.* (2011), foi demonstrado que em castanhas armazenadas por 21 dias a 80°C, houve um aumento na concentração de hidroperóxido, com redução da quantidade de δ e α - tocoferóis.

Em virtude do baixo nível tecnológico da cadeia produtiva da Castanha-do-Brasil, principalmente no manejo e manuseio, podem ser identificados contaminantes como bactérias do grupo coliforme, além de fungos produtores de aflatoxinas. Desta forma estes parâmetros influenciam na comercialização do produto, principalmente no mercado externo (SOUZA, CARTAXO e LEITE, 2004).

Reconhecidas as potencialidades e conservabilidade da Castanha-do-Brasil, a mesma pode ser consumida sob diversas formas: *in natura*, desidratada, salgada e torrada; ou ainda, coberta com chocolate, caramelo, açúcar, mel e outras coberturas. Também pode ser usado em produtos como sorvetes, chocolates, bolos, cereais matinais, lanches, doces e biscoitos. Ainda são identificadas potencialidades de uso do óleo de Castanha-do-Brasil na indústria farmacêutica como digestivo tônico, cicatrizante, combate à anemia, tuberculose e beribéri; na indústria de cosméticos, na fabricação de produtos para tratamento capilar como cremes, loções, shampoos, condicionadores, sabonetes, entre outros (SUFRAMA, 2003); em indústrias de papéis, indústrias têxteis e de alimentação animal (MENEZES e SOUZA, 2008).

1.2 Influências dos nutrientes na saúde

1.2.1 Consumo de nozes e castanhas

Estudos têm demonstrado que o consumo de nozes em humanos está associado ao efeito protetor contra doenças cardiovasculares (ABE, LAJOLO e GENOVESE, 2010). De acordo com Kris-Etherton *et al.* (1999), a substituição de ácidos graxos saturados por ácidos graxos insaturados na dieta, levam a diminuição dos níveis de LDL - colesterol. Portanto, a presença de ácidos graxos insaturados e de compostos polifenólicos em função das propriedades antioxidantes, presentes nas nozes, parecem promover a boa saúde (ABE, LAJOLO e GENOVESE, 2010).

No que se refere a composição em ácidos graxos, Jenkins *et al.* (2002) estabeleceram que óleo de nozes e sementes comestíveis, por serem compostos por quantidades apreciáveis de ácido graxo oléico (C18:1) e linoléico (C18:2), contribuem para a redução das frações de Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL-C) e da Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (VLDL-C), as quais são responsáveis pelo aumento do colesterol sérico. Neste estudo os autores constataram o efeito positivo no perfil sérico lipídico de pacientes com hiperlipidemia moderada, que consumiram 40 g a 75 g /dia de amêndoas e nozes durante um mês.

Porém cabe ressaltar que em pesquisas realizadas por Strunz *et al.* (2008), a suplementação de 45 g de Castanha-do-Brasil durante quinze dias, não causou alteração no perfil lipídico de adultos saudáveis, o que pode estar relacionado ao quantitativo mais elevado de ácidos graxos saturados presentes na castanha. Em um estudo equivalente, indivíduos saudáveis consumiram durante 3 meses 100 µg de selênio/dia (duas unidades de Castanhas-do-Brasil), o que resultou na elevação plasmática de selênio e glutathione peroxidase (THOMSON *et al.*, 2008).

No estudo de Maranhão *et al.* (2011), a suplementação de Castanha-do-Brasil ao longo de 16 semanas em adolescentes do sexo feminino obesos, mostrou que não houve mudança de massa corporal das adolescentes em estudo, mas o perfil lipídico foi influenciado positivamente, no caso, o colesterol total, LDL-C e triacilgliceróis.

No estudo realizado com mulheres com obesidade grave, ficou demonstrado que o consumo diário de 1 noz brasileira dia (290 mg de selênio/dia), durante oito semanas, melhorou o quantitativo de selênio no sangue e o perfil lipídico,

especialmente o das lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), reduzindo assim os riscos cardiovasculares (COMINETTI *et al.*, 2012).

Estudos com homens e mulheres evidenciam que dieta contendo entre 50-100g de amêndoas/dia, diminuiu significativamente o colesterol total e LDL-C; em hipercolesterolêmicos e normocolesterolêmicos, em comparação a uma dieta controle (SPILLER *et al.* 1998; SABATÉ *et al.* , 2003).

Estudo realizado por Jenkins *et al.* (2002) em indivíduos hiperlipêmicos que consumiram 50-100 g de amêndoas/dia mostrou aumento de 2 % de HDL-C quando comparada a concentração de HDL-C de indivíduos que consumiram dieta controle com baixo teor de gordura saturada. De acordo com Lovejoy *et al.* (2002), um quantitativo entre 57-113 g de amêndoa/dia não estabeleceu diferenças significativas em relação ao perfil lipídico de pacientes com diabetes em comparação com aqueles com alto e baixo teor de gordura na dieta Controle. Nos estudos supracitados a concentração de triacilgliceróis não apresentou diferenças estatísticas quando comparadas dietas contendo castanhas e dieta Controle.

No que tange ao impacto do consumo de selênio, em estudo realizado por Strunz *et al.* (2008), o consumo de Castanha-do-Brasil, durante 15 dias aumentou os níveis de selênio, mostrando que os períodos mais curtos com maior quantidade de nozes por dia foram seguidos por incrementos de 370 % sobre os níveis de selênio. Em outro estudo realizado com alimentos de origem animal suplementados com selênio de origem orgânica, em comparação com o de origem vegetal, mostraram aumento da concentração de selênio na carne independente da origem do selênio (STEEN, STROM e BERNHOFT, 2008).

No estudo realizado por Strunz *et al.* (2008) foi observado que a Castanha-do-Brasil aumentou a concentração de selênio no plasma dos indivíduos que participaram do estudo, assim como em alguns estudos que mostraram correlação positiva entre o selênio e o HDL-C (SPAGNOLO *et al.* 1991; LEE, MOON, CHUNG 2003).

Os níveis plasmáticos de selênio alcançado no estudo de Strunz *et al.* (2008) foram de $208 \pm 55 \mu\text{g.L}^{-1}$, cabendo observar que o selênio na Castanha-do-Brasil normalmente aparece na forma de selenometionina, menos tóxica, pois segundo o autor a intoxicação selênio no plasma se dá em níveis maiores que $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$, quando o consumo ocorre por tempo prolongado.

Na região do rio Tapajós na Amazônia brasileira, nas comunidades ribeirinhas a concentração de selênio no sangue total varia de normal a níveis muito altos, entre 142 e 2447 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (LEMIRE *et al.*, 2009). As fontes alimentícias locais são a Castanha-do-Brasil, frango doméstico, carne de caça e certas espécies de peixes (LEMIRE *et al.*, 2010). Há uma variação significativa da concentração de selênio entre as localidades na própria região e os mais altos níveis são encontrados em pessoas que consomem grandes quantidades de Castanha-do-Brasil, principalmente durante o período em que as castanhas maduras caem das árvores, de dezembro a abril (LEMIRE *et al.*, 2009). Em contraste, há pouco selênio na água consumida pelos moradores e nas águas dos rios Tapajós (LEMIRE *et al.*, 2010a).

1.2.2 Importância nutricional de macro e micronutrientes

Fibras

A fibra alimentar atua no trato gastrointestinal e em função de sua presença, há o aumento do tempo de mastigação, o que leva ao aumento do quantitativo de suco gástrico, que junto com a fibra aumenta o volume do conteúdo gástrico, mantendo assim por mais tempo a sensação de saciedade (BRAND-MILLER, 2004).

Fibra alimentar é a soma de todos os polissacarídeos de vegetais: celulose, pectinas hemicelulósicas, gomas e mucilagens e lignina, que não são hidrolisados pelas enzimas do trato digestivo humano (MENEZES e SOUZA, 2004), ou ainda, complexo de fibras solúveis, celulose, hemiceluloses e polissacarídeos solúveis em água (TURLEY *et al.*, 1991).

As fibras, isoladas ou em combinação podem atuar como: (I) alterando a digestão e a absorção dos lipídeos dietéticos e/ou aumentando a excreção fecal dos ácidos biliares e esteróis neutros, agindo como sequestrantes dos ácidos biliares; (II) aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta no cólon, devido à fermentação e/ou, (III) diminuindo a porcentagem de ácidos biliares primários na bile, embora aumentem a de ácidos biliares secundários (TOPPING, 1991).

As fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico; aumentam o tempo de trânsito intestinal; tornam mais lentas a absorção de glicose (MENEZES e SOUZA, 2004); retardam a hidrólise do amido e reduzem os níveis elevados do colesterol

plasmático de baixa densidade (CHAMPE, HARVEY e FERRIER, 2006). As fibras insolúveis diminuem o tempo de trânsito intestinal; aumentam o volume fecal, tornando mais lenta a absorção de glicose e retardam a digestão do amido (MENEZES e SOUZA, 2004).

As fibras insolúveis quando se ligam a sais biliares reduzem a absorção de gordura e colesterol. As fibras insolúveis nem sempre alteram os níveis de colesterol sérico, porque a síntese de colesterol hepático pode compensar a má absorção de colesterol. As fibras solúveis, tais como a pectina viscosa, goma guar, farelo de aveia, feijões, leguminosas, frutas e hortaliças, parecem diminuir especificamente o colesterol LDL (SHILS *et al.* 2003).

A influência no maior ou menor peso fecal, conforme Eastwood *et al.* (1984) pode se dar somente em função do conteúdo de fibra na dieta. Esta influência é dependente das características físico-químicas do material fibroso, como a capacidade de retenção de água e a maior resistência à fermentação, sendo relatado aumento de peso de fezes em ratos e em humanos alimentados com diferentes fontes de fibras (SGARBIERI, 1996).

Os efeitos fisiológicos das fibras alimentares no que refere aos lipídeos evidenciam que farelos de trigo e de aveia, goma guar, pectina e alfafa apresentam graus variáveis de inibição da atividade lipolítica em ratos, o que poderia teoricamente, limitar a taxa de digestão e absorção de gorduras, em função do aumento da viscosidade intestinal (ISAKSSON *et al.*, 1982). Outro estudo também sugere que as fibras podem diminuir a velocidade de digestão e absorção de gorduras ligando-se as micelas e aumentando a viscosidade e o volume do conteúdo intestinal (SCHENEEMAN e GALLAHER, 1986). Segundo Anderson e Gustafson (1988), várias fontes de fibras dietéticas, como farelo de trigo, aveia e cevada, têm potencial de reduzirem o colesterol total e LDL-C.

Estudos realizados por Anderson, Kritchvick e Bonfield, (1990), demonstram que as fibras da dieta são benéficas ao organismo, pois diminuem o colesterol plasmático total, a lipoproteína LDL-colesterol e os triacilgliceróis plasmáticos, além de favorecerem a saciedade e a perda de peso corporal. Segundo Champe, Harvey e Ferrier (2006), dietas ricas em fibras solúveis diminuem os níveis de colesterol total e LDL-C, com isso diminuindo o risco de doenças cardiovasculares.

Estudos foram realizados para avaliar quatro formulações dietéticas ricas em fibras solúveis na redução de colesterol sanguíneo em ratos, usando o feijão preto e

o vermelho como fonte de fibra, com proporções de respectivamente 40 % e 30 % de fibras. Estas formulações foram utilizadas na proporção de 7,4 % na elaboração de dietas, em comparação com uma dieta controle e uma padrão. Ratos com dieta controle apresentaram aumento significativo dos níveis séricos de colesterol, peso do fígado, colesterol e lipídeos nas fezes e fígado em relação a padrão. As dietas com formulação reduziram o colesterol total em 29 %, o HDL-C em 34 %, o peso do fígado em 11,7 % e o colesterol do fígado em 9 % em relação a controle (DUARTE *et al.*, 1998).

No que se refere à relação de fibras e consumo de gordura saturada, Anderson (1994) afirma que o LDL-C e o colesterol total podem se elevar devido ao consumo excessivo de calorias em gordura saturada, colesterol e proteína animal. Este quadro pode ser revertido mediante diminuição do peso corporal, pela substituição da gordura saturada, por ácidos graxos poliinsaturados e aumento da fibra alimentar, especialmente as solúveis que apresentam importante efeito hipocolesterolêmico reduzindo os riscos de doenças coronarianas.

Ainda no mesmo estudo, Anderson (1994), usando como fonte de fibra, pectina e goma de aveia, demonstrou significativa redução na concentração de colesterol sérico e hepático em comparação com o grupo de ratos alimentados com dieta controle. Ratos alimentados com dieta contendo fibras solúveis e insolúveis (soja e farelo de aveia), não demonstraram alteração significativa do colesterol sérico, no entanto, os valores do colesterol hepático foram reduzidos em relação à dieta controle.

Estudo realizado por Hudgins *et al.* (2000), demonstraram que dieta com alta quantidade de carboidratos tem efeito pequeno no balanço energético, contudo o impacto da síntese de ácidos graxos saturados, na composição de ácidos graxos e produção de VLDL-C e TG é grande, devido à pequena quantidade de ácidos graxos circulantes no plasma.

Na ingestão de dieta líquida de carboidratos, as fibras solúveis proporcionam significativa redução no esvaziamento gástrico de indivíduos saudáveis, já no esvaziamento gástrico de alimentos sólidos a participação das fibras solúveis é controversa (TORSDOTTIR *et al.*, 1989).

Fibras solúveis em água podem atuar na redução da hipercolesterolemia, o que foi evidenciado em estudos realizados em humanos e animais, utilizando componentes isolados da fração solúvel da fibra (pectina, goma guar e mucilagem)

ou produtos com elevada concentração desta, como aveia, feijão, soja, cevada e certas frutas e vegetais, demonstrando níveis de redução de colesterol total e LDL-C, particularmente em dietas contendo elevados níveis de lipídeos (ANDERSON, 1994).

Foi verificado por Jenkins *et al.* (1978), que goma guar e pectina retardaram o trânsito intestinal, enquanto que o farelo de trigo promoveu a aceleração do mesmo; os autores atribuíram esses efeitos ao grau de viscosidade das fontes de fibra utilizadas no experimento.

A Castanha-do-Brasil é uma boa fonte de fibra alimentar presente na concentração de 8,02 % de fibra (MENEZES e SOUZA, 2004), com predominância de fibras insolúveis. Esses teores consideráveis de fibras insolúveis, cujo consumo está associado ao aumento do bolo fecal e à prevenção de problemas entéricos, valorizam ainda mais esse alimento na promoção da saúde humana (MAHAN e ARLIN, 2005).

Proteínas

As proteínas são componentes complexos formados de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, os quais estão envolvidos na síntese de tecido protéico, nos processos anabólicos de fornecimento de aminoácidos, para construção e manutenção de tecidos corpóreos, além de participar da formação de enzimas, hormônios, anticorpos, fluídos e secreções corpóreas. Na forma de lipoproteínas participam no transporte de triacilgliceróis, colesterol, fosfolipídeos e vitaminas lipossolúveis. As proteínas fornecidas pela dieta devem conter os aminoácidos essenciais, que se não forem ofertados conduzem a um balanço nitrogenado negativo, perda de peso e prejuízos ao desenvolvimento normal do indivíduo (MAHAN e ARLIN, 2005).

A hipótese do efeito hipocolesterolêmico de proteínas é devido ao acúmulo de peptídeos na bile ácida, proporcionado a diminuição da capacidade de reabsorção da bile ácida no íleo, diminuindo o nível de colesterol sanguíneo (NAGAOKA *et al.*, 1997).

A atividade das desaturases, catalisando a biossíntese de ácidos graxos essenciais como a do ácido araquidônico (AA) e do ácido docosahexaenóico (DHA),

também foi relatado, como sendo influenciado pela quantidade e qualidade de proteína da dieta. Consequentemente há influência da proteína da dieta nos níveis de AA, DHA, e outros ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa n-3 e n-6 no tecido dos ratos. Foi observado que o aumento de dieta protéica contendo 45 % de energia proveniente de caseína aumenta a atividade Δ -6 desaturase nos microsomos do fígado de ratos, em comparação com uma dieta com suprimento de proteína baixo, de 5% de energia proveniente de caseína (PELUFFO *et al.*, 1984).

É reconhecido que as principais fontes protéicas de origem vegetal são advindas das leguminosas e oleaginosas, dentro desta perspectiva a Castanha-do-Brasil merece destaque, visto que sua constituição em aminoácidos ricos em enxofre, como metionina (18%) e a cisteína (8%) a consagram como uma das maiores fontes protéico-nutricionais (SANTOS, 2008).

Lipídeos

Os ácidos graxos são sintetizados em vários tecidos, onde o fígado é o mais ativo deles, sendo estimulado pela secreção de insulina. Os triacilgliceróis e fosfolipídeos são sintetizados no fígado e incorporados as lipoproteínas, e transportados para os tecidos periféricos para o uso e armazenamento. O fígado também sintetiza colesterol e converte aproximadamente 80% deste em sais biliares (HOUSSAY, 1984).

O fígado ainda possui as mais variadas e extensas funções de um órgão: centro de defesa, controle do sistema hormonal e reservatório de sangue. Sede de processos bioquímicos relacionados ao metabolismo de nutrientes, como armazenamento, ressintetização e mobilização dos produtos finais de digestão quando necessário. As células hepáticas armazenam energia na forma de glicogênio, que se torna disponível como glicose, quando necessário. Quando a concentração de glicose não pode ser mantida pela glicogenólise, as células do fígado convertem proteína em glicose por meio da gliconeogênese (MAHAN e ARLIN, 2005).

O depósito lipídico pode ser derivado diretamente da gordura ingerida na dieta ou ser sintetizado no tecido adiposo, glândula mamária ou fígado e ainda derivado de açúcares simples de carboidratos dietéticos. O depósito é formado

principalmente de triacilgliceróis, que servem como fonte de energia para o organismo quando o consumo de alimento for reduzido (HOUSSAY, 1984). O panículo adiposo subcutâneo acumula aproximadamente 50 % de gordura total do organismo; a região perirenal, 10 a 15 %; o mesentério e abaixo do peritônio, de 10 % a 15 % e os espaços intermusculares 5 % (HOUSSAY, 1984).

A disponibilidade de nutrientes, e em menor extensão a composição da dieta, especialmente as com grande quantidade de ácidos graxos saturados, podem alterar a taxa de lipólise (VERNON, 1992). O consumo de ácidos graxos saturados contribui para o aumento da concentração do colesterol sérico (GARG *et al.*, 1997) e dos polinsaturados contribuem para a sua diminuição (NORUN, 1992). Estudos indicam que a quantidade, o tipo de gordura, e o colesterol livre ingeridos, produzem efeitos na concentração lipídica sanguínea (SÉROUGNE *et al.*, 1995).

O consumo de gordura dietética saturada pode conduzir à obesidade e aumentar os níveis de triacilgliceróis do soro sanguíneo, levando ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (GRUNDY e DENKE, 1990). Após ingerir alimentação com manteiga como fonte de lipídeos, foi constatado que houve excessivo incremento de partículas de VLDL-C nos quilomicrons, aumentando a concentração de triacilgliceróis, excedendo a capacidade do mecanismo de remoção normal de triacilgliceróis, pelos quilomicrons e partículas de VLDL-(MIESENBÖCK *et al.*, 1992). Em contraste, comportamentos similares não foram observados com a ingestão de azeite de oliva. O azeite de oliva induz a um benéfico perfil lipídico, exemplo disto é a redução da concentração de triacilgliceróis e o aumento da concentração do HDL- C (THOMSEN *et al.*, 1999).

Conforme Mensink *et al.* (1992), os ácidos graxos saturados (SFA) são duas vezes mais potentes em aumentar os níveis de LDL-C, enquanto que os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) reduzem os níveis de LDL-C, sendo os monoinsaturados (MUFA) menos efetivos que os PUFAS. Os ácidos graxos láurico (C12 : 0), mirístico (C14 : 0) e palmítico (C16 : 0) têm demonstrado aumentar os níveis de LDL-C, enquanto o ácido esteárico (C18 : 0) tem se demonstrado neutro (FUENTES, 1998).

Nestel (1999) relata que ácidos graxos saturados tendem a aumentar os níveis de colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), mas que o aumento é maior nos níveis de colesterol total plasmático e LDL- colesterol (CHAMPE, HARVEY e FERRIER, 2006). No tocante as lipoproteínas ricas em

triacilgliceróis, os ácidos graxos saturados têm demonstrado pouca influência (HOWELL *et al.*, 1997). Durante a absorção de gorduras foi observado que a redução de HDL-C foi devido ao efeito dos ácidos graxos saturados (DE BRUIN *et al.*, 1991) e que a manutenção dos níveis de HDL-C é efeito dos ácidos graxos monoinsaturados (DE BRUIN *et al.*, 1993).

Nos estudos realizados por Woollett, Spady e Dietschy (1992), os ácidos graxos saturados, têm demonstrado aumentar as concentrações séricas de colesterol total, LDL-C e HDL-C. Por outro lado, a substituição isoenergética destes ácidos pelos MUFA e PUFAS da série ômega 6, tem mostrado efeitos opostos. Os estudos com animais revelam de forma consistente que os ácidos graxos insaturados reduzem o colesterol LDL-C. Enquanto triacilgliceróis séricos não são significativamente reduzidos quando a energia derivada do SFA diminui (YU-POTH *et al.*, 1999) ou quando SFA são substituídos por ácidos gordos insaturados (GARDNER E KRAEMER, 1995).

Estudo realizado por Yaniv *et al.* (1999) em ratos alimentados com dietas cuja fonte lipídica (20 % lipídios) em cada uma das dietas foi o óleo de coco, óleo de girassol e o óleo da semente de "*Matthiola incana*" rica em ácido graxo ω_3 , demonstrou que houve maior redução plasmática de colesterol quando utilizado o óleo da semente. Os triacilgliceróis plasmáticos mostraram-se reduzidos quando foi utilizado o óleo da semente e o óleo de girassol em relação à dieta com óleo de coco, demonstrando que ácidos graxos saturados não mostraram efetividade quanto as variáveis avaliadas.

No trabalho em que animais foram alimentados com dietas contendo grande quantidade de ácidos graxos saturados ou insaturados, durante quatro semanas, resultaram em animais com iguais pesos corporais e consumo dietético, embora o acúmulo de gordura na região do epidídimo e retroperitoneal fosse 30 % maior nos ratos alimentados com dieta contendo gordura saturada (HILL, *et al.*, 1993). Segundo Bizeau e Hazel (1999), o tipo de gordura da dieta pode favorecer alterações metabólicas, como maior gliconeogênese e resistência à insulina (como em dietas com ácidos graxos saturados), ou maior glicogenólise e maior sensibilidade à insulina (como dietas com ácidos graxos insaturados).

Em outro estudo, a gordura suína, quando consumida em quantidade moderada, não interferiu na elevação da taxa de colesterol sérico; entretanto, ao se aumentar o nível de gordura suína de 7 para 14 %, observou-se elevação da taxa do

colesterol sérico. Esse fato pode ser consequência do excesso de ácidos graxos saturados, mais especificamente do ácido láurico, mirístico e palmítico, considerados como os três principais ácidos graxos causadores de hipercolesterolemia e promotores de aterosclerose (CHAMPE, HARVEY e FERRIER, 2006).

Os resultados encontrados por Águila *et al.* (1997) evidenciam que, em ratos envelhecidos sob dieta rica em óleo de canola (ácido graxo ω_3), as alterações morfológicas mesoscópicas cardíacas e metabólicas foram menos intensas de que em animais idosos e, principalmente animais de mesma idade, sob dieta hiperlipídica.

Dietas ofertadas com maior quantidade de ácidos graxos insaturados previnem o desenvolvimento de resistência à insulina no músculo esquelético, tecido adiposo e fígado, quando comparadas com outras ricas em ácidos graxos saturados e insaturados (HUANG *et al.*, 1997).

Estudo realizado por Morais *et al.* (2003), mostraram que em dietas com 14 % de lipídeos, os maiores teores de colesterol foram observados nos animais que consumiram gordura suína (82,55 mg.dL⁻¹), seguidos pelos alimentados com azeite de oliva, óleo de canola e, finalmente, com o menor conteúdo de colesterol, os alimentados à base de óleo de soja (57,93 mg.dL⁻¹).

Em dietas ricas em gorduras polinsaturadas ômega 3, tem sido demonstrado que este tipo de gordura suprime arritmias cardíacas, reduzem triacilgliceróis séricos, diminuem a tendência de trombose e reduzem consideravelmente o risco de mortalidade por doenças cardiovasculares, apresentando pouco efeito sobre os níveis de colesterol LDL-C e HDL-C (CHAMPE, HARVEY e FERRIER, 2006).

As nozes são ricas em lipídeos, principalmente MUFA e PUFA e têm alta densidade energética. Quando se compara a composição de gordura da dieta rica em ácidos graxos saturados, com aquelas de alto teor de MUFA e PUFA, verificam-se os benefícios dos MUFA e PUFA para a saúde (ROS e MATAIX, 2006).

Grande redução da resposta pós-prandial de glucose é referida aos ácidos graxos monoinsaturados, o mesmo não sendo observado para os ácidos graxos saturados (GATTI *et al.*, 1992). Outros estudos indicam que a substituição de gordura saturada por gordura polinsaturada diminui o nível de colesterol de soro sanguíneo e a deposição de gordura corpórea (NESTEL, 1999).

É relatado que a hipertrigliceridemia provoca diminuição do HDL-C e aumenta a relação CT/ HDL-C (relação maior que 5), constituindo fator de risco

aterogênico para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, sendo os níveis elevados de triacilgliceróis, um fator de risco independente para o aparecimento destas doenças (ASSMANN *et al.*, 1999).

Minerais: ação fisiológica do selênio

A Castanha-do-Brasil, além da destacada quantidade de selênio, apresenta quantidades significativas de cálcio, fósforo e magnésio (ROGEZ, 1995).

Na amêndoa da Castanha-do-Brasil, o percentual de cálcio e fósforo respectivamente encontrado foi de 243,00 mg.100 g⁻¹ e 664,00 mg.100 g⁻¹ (PECHNIK e GUIMARÃES, 1962). O cálcio e o fósforo são importantes para a mineralização óssea fetal e pós-natal (TRINDADE, 2005) e também para sanar distúrbios de mineralização ósseas encontradas em prematuros, definido como osteopenia da prematuridade, até alterações mais intensas, que levam ao quadro de raquitismo da prematuridade (RIGO *et al.*, 2000). Como também a deficiência de cálcio e fósforo ocasiona distúrbios patológicos como a tetania, raquitismo, a osteomalácia e principalmente a osteoporose (AUGUSTO, 1999).

No que tange em específico a presença de selênio no organismo, como um mineral traço essencial, sabe-se que o organismo necessita deste mineral em quantidades reduzidas, sendo que o mesmo pode tornar-se tóxico em altas doses. A importância biológica do selênio vem sendo discutida amplamente, com indicativos de suas importantes propriedades antioxidantes (FEWTRELL *et al.*, 1999). Necessário ao crescimento e desenvolvimento normal, atua como o principal antioxidante junto com a vitamina E, para proteger as membranas das células e prevenir a geração de radicais livres, diminuindo assim, o risco de câncer, doenças do coração e dos vasos sanguíneos. Previne a oxidação de ácidos graxos insaturados, desacelera o envelhecimento dos tecidos, provocado pela oxidação e ajuda na manutenção da função cardíaca adequada. É reconhecido como necessário para adequada manutenção da função imunológica e preservação da elasticidade do tecido (HALIWELL, 1992).

Em estudos mais recentes têm sido efetivamente comprovada a função do selênio, onde as funções biológicas do selênio incluem defesa contra estresse oxidativo, regulação da ação dos hormônios da tireoide e regulação do potencial redox da vitamina C e de outras moléculas (DUMONT, VANHAECKE e CORNELIS,

2006).

Sinatra e De Marco (1995) por sua vez afirmam que o selênio participa da formação da glutathione peroxidase, sendo o principal antioxidante endógeno natural que neutraliza peróxidos lipídicos e hidroperóxidos; e que funciona como enzima antioxidante nas membranas celulares, impedindo a formação de radicais livres, além de reduzir os peróxidos lipídicos e peróxidos de hidrogênio, protegendo o organismo do stress oxidativo ou oxidação celular (AGGET, 2000).

Conforme estudos realizados por Rayman (2000), a relação de causa e efeito é positiva quando se relaciona a ingestão dietética de selênio e o efeito protetor sobre o DNA, proteínas, lipídeos e lipoproteínas do dano oxidativo, uma vez que o selênio é componente de selenoproteínas, as quais desempenham importantes propriedades antioxidantes. Além disto, o selênio tem participação importante no sistema imunológico, contribuindo para a produção dos neutrófilos e macrófagos nos processos inflamatórios (KLEIN, 2002).

Em relação a biodisponibilidade e toxicidade do selênio nos alimentos, segundo Tinggi (2003), estes estão na dependência da forma química, e geralmente os compostos orgânicos de selênio são mais biodisponíveis e menos tóxicos que os inorgânicos, como selenitos e selenatos.

A Organização Mundial da Saúde (1998) relata que o selênio das nozes brasileiras parece ser prontamente biodisponível (90 % ou mais), o que está em concordância com achados de Finley (2006), que relata que a absorção de todas as formas de selênio é relativamente alta (70 % a 95 %), mas que pode variar dependendo da fonte e do indivíduo.

Após sua absorção, as espécies de selênio são transportados para diferentes órgãos e tecidos com a ajuda de transportadores protéicos, na maioria das vezes albumina ou selenoproteína P. Suzuki *et al.* (2009) sugeriu que o selênio ingerido é carregado pela albumina e transportado para o fígado, onde serve para síntese de selenoproteína P. Estas por sua vez vão para a corrente sanguínea para servir de transportador de selênio entre o fígado e outros órgãos e tecidos.

O fígado é o órgão com a maior quantidade de selênio, seguido pelos rins. Estes órgãos são os dois principais locais de síntese para a maioria selenoproteínas, especialmente a selenoproteína P e glutathione peroxidase celulares no fígado e glutathione peroxidase extracelular nos rins (SUZUKI *et al.*, 2009). Outros órgãos e tecidos que contêm selênio, são o baço, pâncreas, sangue, plasma, hemácias,

esqueleto, músculos e gordura (STAHL *et al.*, 2002).

No que se refere ao conteúdo de selênio em alimentos, foi relatado que depende das condições ambientais, particularmente em relação à quantidade e qualidade de selênio que os constitui (LI, MCGRATH e ZHAO, 2008). Quanto às formas orgânicas de selênio (ex. selenometionina e selenocisteína), observa-se que estas, são mais prontamente absorvíveis que as inorgânicas (ex. selenito e selenato) e que os compostos oriundos de vegetais são mais biodisponíveis dos que os de origem animal.

Em geral os alimentos de origem vegetal contêm uma proporção de compostos orgânicos de selênio na forma de selenometionina, enquanto que os alimentos de origem animal a maior proporção é de selenocisteína e alguma selenometionina.

Seleniometionina e seleniocisteína são as principais formas de selênio em nutrição humana (GIBNEY, VORSTER e KOK, 2005). A selenometionina é predominantemente encontrada em cereais, e as concentrações de selênio variam de 0,01 a 0,55 $\mu\text{g.g}^{-1}$ peso fresco (RAYMAN INFANTE e SARGENT, 2008) enquanto que em outros alimentos vegetais o conteúdo é geralmente mais baixo, exceto na Castanha-do-Brasil que apresenta quantidades apreciáveis (DUMONT, VANHAECKE e CORNELIS, 2006).

De acordo com estudos realizados com diferentes modelos biológicos (peixes, roedores, frango, células e seres humanos), as espécies de selênio orgânico demonstraram-se mais disponíveis para o organismo do que as espécies inorgânicas, pelo menos quando não estão presos em uma matriz complexa (FOX *et al.*, 2004).

Esta conclusão é baseada em uma melhor absorção (diferença entre ingestão e excreção de selênio nas fezes), uma maior retenção de líquidos (diferença entre a ingestão de selênio e excreção urinária e fecal) (FOX *et al.*, 2004) e um maior acúmulo de selênio no sangue e nos tecidos (especialmente músculos), quando espécies orgânicas (selenometionina e levedura) são administrados, em comparação com espécies inorgânicas (selenito e selenato).

As conclusões são menos claras quando se considera a glutathione peroxidase após a ingestão de um ou outro tipo de espécies selênio. Tem sido relatado que selênio orgânico se acumula mais facilmente nos tecidos, mas gera uma menor atividade de glutathione peroxidase em comparação com o selênio inorgânico. No

entanto, esta observação parece que diz respeito especificamente a selenometionina, ao invés de ser uma característica global de espécies orgânicas (FOX *et al.*, 2004). A metilselenocisteína (MeSeCys), por exemplo, não compartilha esses recursos com selenometionina (ZENG *et al.*, 2008).

Esta capacidade de acumulação de selenometionina é explicada pelo fato de que esta espécie em contraste com outras espécies orgânicas pode ser diretamente incorporada as proteínas do corpo, em vez da metionina. Este conjunto importante de selenometionina não é automaticamente relacionado a uma maior bioatividade, porque se a selenometionina é incorporada não especificamente as proteínas do corpo, não pode ser reconhecido como selênio a ser mobilizados pelo organismo para a síntese de selenoproteínas. Selenometionina, parece sim, ser uma reserva eficiente de selênio em caso de escassez a longo prazo (BEHNE, ALBER e KYRIAKOPOULOS, 2009); por causa da recuperação do selênio a partir do catabolismo da selenometionina, durante o turnover natural de proteínas (FOX *et al.*, 2004; ZENG *et al.*, 2008).

Conforme afirmado por Thiry *et al.* (2012), o selênio orgânico na forma de selenometionina (encontrado em cereais ou leveduras enriquecidas com selênio), demonstra que provavelmente a longo prazo, é mais eficiente para prevenir uma deficiência de selênio, enquanto selênio inorgânico na forma de selenito (encontrada principalmente em vegetais enriquecidos com selenito ou suplementos alimentares) podem responder mais rapidamente a uma necessidade aguda, mas tem um maior risco de se tornar tóxicos a longo prazo. De qualquer forma pouco se sabe sobre a biodisponibilidade de espécies selênio que não a selenometionina e o selenito. Portanto é necessário que sejam realizados mais estudos, para que as formas de selênio continuem a ser identificados e caracterizados, com isso, tornando mais claro o conhecimento sobre a biodisponibilidade e bioatividade do selênio.

A razão para o alto teor de selênio em Castanha-do-Brasil é que estas são ricas em proteínas e selênio, na forma de selenometionina, que se incorporam as proteínas de forma inespecífica, no lugar da metionina (KOTREBAI *et al.*, 2000).

Nos alimentos de origem animal, há dados limitados sobre as formas de apresentação do selênio, mas há um indicativo de que as principais formas são selenometionina e selenocisteína, que são incorporados na proteína muscular de forma inespecífica (DÍAZ HUERTA, FERNÁNDEZ SÁNCHEZ e SANZ-MEDEL, 2004).

1.2.3 Resposta biológica a diferentes tipos de fontes lipídicas na dieta

Estudo realizado por Almeida *et al.* (2009) demonstrou que a composição de ácidos graxos da dieta, principalmente os ácidos graxos saturados tem grande influência na deposição tecidual em modelos animais. Conforme o mesmo autor, a ingestão de dieta contendo como base lipídica a gordura de porco, em função do quantitativo de ácidos graxos saturados, pode contribuir para o surgimento e a progressão das doenças cardiovasculares (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Tem sido postulado que a qualidade de lipídeos da dieta pode causar impactos fisiológicos, por influenciar na utilização de triacilgliceróis presentes nas lipoproteínas séricas, assim como na deposição e na biodisponibilidade dos lipídeos teciduais (PORTILLO *et al.*, 1999). No entanto segundo Garaulet *et al.* (2001), este é um processo reversível, ficando condicionado a modificação da qualidade de lipídeos utilizadas na dieta.

Almeida *et al.* (2011), em estudo realizado com diferentes fontes lipídicas, observou que os ratos alimentados com dieta contendo soja apresentaram menor concentração de triacilgliceróis, quando comparado com os alimentados com dieta contendo banha de porco. Cabe observar que quando se compara o consumo de fontes lipídicas saturadas e polinsaturadas em modelos animais, o triacilglicerol sérico, tem redução significativa quando se trata de fonte polinsaturada (CHEN, LII e WANG, 1995). Monsma, Gallaher e Ney (1996), afirmam que a presença em grandes quantidades de ácido esteárico esterificado ao glicerol na molécula de triglicerol, nas posições 1 e 3 ou na posição 3, leva a um menor coeficiente de digestibilidade de lipídeos.

Quando comparadas as dietas com fonte lipídica banha de porco e fonte óleo de soja, observou-se que os ratos alimentados com a dieta com banha apresentaram maior concentração de colesterol total do que os alimentados com a dieta de soja (ALMEIDA *et al.*, 2011). De acordo com Garg e Blake (1997), o ácido linoleico pode reduzir o colesterol sérico; o que pode sugerir que dietas com maior concentração deste ácido graxo podem ter efeito hipocolesterolêmico, a exemplo do óleo de soja (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Estudos também demonstram que ratos cuja dieta teve como fonte lipídica o óleo de soja, apresentaram maior concentração de albumina, quando comparada aqueles com dieta contendo banha de porco (ALMEIDA *et al.*, 2011). De acordo com

Nassir *et al.* (2002), a albumina é uma importante proteína no metabolismo lipídico, pois uma alta concentração, implica em maior transporte de ácidos graxos livres no plasma.

Segundo Almeida *et al.* (2011), no estudo com ratos submetidos à dietas com diferentes fontes lipídicas, o menor concentração de triacilgliceróis e a maior concentração de albumina sérica, pode ter sido consequência da maior distribuição dos triacilgliceróis pela albumina e maior captação dos ácidos graxos pelos tecidos.

Quanto ao ganho de peso e consumo alimentar, no estudo realizado por Almeida *et al.* (2011), não foi observado diferença significativa entre dietas com diferentes fontes lipídicas, dentre estas a dieta com fonte lipídica soja e a com fonte lipídica banha de porco.

No estudo realizado por Strunz *et al.* (2008), os participantes do estudo não tiveram mudança no ganho de peso antes e depois da utilização de Castanha-do-Brasil, mas a concentração de selênio no soro sanguíneo foi ampliada em quatro vezes. Também mostra que a suplementação com castanha, não alterou LDL-C, HDL-C e triacilglicerol antes e depois da utilização da castanha.

A esteatose hepática é caracterizada por um acúmulo de partículas de VLDL, fazendo com que o fígado apresente um peso 5% maior que o valor de referência (LECLERCQ, 1998), sendo essa característica uma resultante direta do tipo de fonte lipídica utilizada (MONSMA, GALLAHER e NEY, 1996). No entanto, no estudo realizado por Almeida *et al.* (2011), não foi observado este comportamento.

1.2.4 Modelos biológicos

O uso de animais de laboratório, em muito tem auxiliado o desenvolvimento científico nas mais diversas áreas, podendo ser observado pelo avanço nas áreas químicas, farmacológicas, fisiológicas, patológicas e estudos de alimentos (MENENDEZ, 1985). As espécies convencionais de laboratório, mais comumente usadas, são os ratos, hamsters, camundongos, cobaias e coelhos. O rato, entretanto é a espécie mais utilizada em pesquisas de nutrição (LEMOS, 1999) e no estudo de metabolismo de lipídeos (SUCKLING e JACKSON, 1993).

A origem do nome científico do rato (*Rattus norvegicus*) se deve ao fato deste ser originário do velho mundo e ter-se disseminado principalmente na Noruega

(HARKNESS e WAGNER, 1993). O rato é utilizado em estudos, devido às vantagens como o tamanho, fácil manejo, fecundidade, baixo consumo, resistência a doenças e custo de manutenção (WADDELL e DESAI, 1981). Estes animais requerem ambiente entre 20-24°C, umidade relativa entre 40-60 % e 12 horas de luminosidade. As fêmeas estão aptas à reprodução no período de 80-100 dias de vida; o período de gestação é de 21 dias, iniciando a ingestão de produtos sólidos aos 12 dias de idade (HARKNESS e WAGNER, 1993). Os ratos são fisiologicamente semelhantes a outros animais monogástricos, diferindo por não possuírem vesícula biliar e apresentarem pâncreas difuso. O transporte de sais biliares é feito através de três ductos que partem do fígado diretamente para o duodeno (WADDELL e DESAI, 1981). De acordo com Huth (1995), estudos com ratos e cobaias, têm sido realizados para avaliar o coeficiente de digestibilidade de óleos e gorduras, em função da semelhança com os humanos.

Cabe observar assim, que pesquisas na área de nutrição, como requerimentos nutricionais e o tipo de alimentação para o ser humano, têm sido realizadas com ratos. Para tanto, cuidados como o modelo disponível, espécie adequada, número de variáveis em estudo, nível biológico e bioquímico de experimentação, sensibilidade animal, presença ou ausência de nutrientes devem ser observados (ROGERS e NEWBERNE, 1973).

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M. I. Comparison idant capacity of nuts. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, Supl.1, p. 254-259, mai. 2010.
- ADHIKARI, P.; HWANG, K.T.; SHIN, M.K.; LEE, B.K.; KIM, S.K.; KIM, S.Y. et al. Tocols in caneberry seed oils. **Food Chem.**, v. 111, n. 1, p. 687-690, 2008. In: COSTA, T.; JORGE, N. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, v. 13, n. 3, p. 195-203, 2011.
- AGARWAL, S.; RAO, A.V.; Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal**, v. 163, n. 6, p. 739-744, 2000.
- AGGET, P. J. Trace elements of the micropremie. **Clin. Perinatol**, v. 27, p. 119-129, 2000.
- ÁGUILA, M.B.; APFEL, M.I.R.; LACERDA, C.A.M. Comparação Morfológica e Bioquímica entre Ratos Envelhecidos Alimentados com Dieta Hiperlipídica e com Óleo de Canola. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 68, n. 3, p. 155-161, 1997.
- ALMEIDA, M. E. F.; QUEIROZ, J.H.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 143-152, jan.-fev, 2011.
- ALMEIDA, M.E.F.; QUEIROZ, J.H.; QUEIROZ, M.E.L.R.; Costa, N.M.B.; Matta, S.L.P. Perfil lipídico tecidual de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Rev. Nutr.**, v. 22, n. 1, p. 51-60, 2009.
- AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S.M.A.; PADOVANI, R.M. DRI: Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 71-78, 2001.
- ANDERSON, J. W.; KRITCHRVISK, D.; BONFIELD, C. **Dietary Fiber: chemistry, physiology and health effects**. New York, 1990. 500p. In: MENEZES, H.C.; SOUZA, M. L. Processamentos de amêndoa e torta de Castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 120-128, jan.-mar. 2004.
- ANDERSON, J.W.; GUSTAFSON, N.J. Hypocholesterolemic effects of oat and bean products. **Americam Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, p. 749-753, 1988.
- ANDERSON, J.W.; JONES, A.E.; RIDDELL-MASON, S. Tem different dietary fibers have signicantly differents effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. **Journal of Nutrition**. v. 124, n. 1, p. 78-83, 1994.
- ARAÚJO, A. P. et al. **A vegetação da Amazônia brasileira**. In: **Simpósio do Trópico Úmido**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984.

ASSMANN, G.; CULLEN, P.; ECKARDSTEIN, A.V.; FUNKE, H.; SCHULTE, H. The importance of triglycerides as a significant risk factor. Institute of Arteriosclerosis Research, Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University of Münster, Germany. *European Heart Journal*, p. J7-J11, 1999.

AUGUSTO, A. L. P.; ALVES, D.C.; MANNARINO, I.C.; GERUDE, M.; ALVES, D.C. **Terapia nutricional**. São Paulo: Atheneu, 1999.

BAGGIO, C.E.; LIMA, U.A.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; RIBEIRO, M.A.A. Armazenamento da Castanha do Pará com e sem casca: efeito da temperatura na resistência ao ranço. **Sci. Agric., Piracicaba**, v. 50, n. 3, p. 343-348, out.-dez., 1993.

BEHNE, D.; ALBER, D.; KYRIAKOPOULOS, A. Selenium distribution in tissues and monitor materials after long-term selenium supplementation investigated by neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 281, 1.ed, p. 31-34, jul. 2009.

BIZEAU, M. E.; HAZEL, J. R. Dietary fat type alters glucose metabolism in isolated rat hepatocytes. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 10, p. 709-715, 1999.

BLOMHO, V. R.; CARLSEN, M. H.; ANDERSEN, L. F.; JACOBS, D. R. Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. **Br J Nutr.**, v. 96, p. S52-S60, 2006. In: ZAJDENWEG, C.; BRANCO, G. F.; ALAMED, J.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Correlation between sensory and chemical markers in the evaluation of Brazil nut oxidative shelf-life. **Eur. Food. Res. Technol.**, v. 233, p. 109-116, 2011.

BONELLI, P.R.; DELLA REOCCA, P.A.; CERRELLA, E.G.; CUKIERMAN, A.L. Effect of pyrolysis temperature on composition, surface properties and thermal degradation rates of Brazil Nuts shells. **Bioresource Technology**, v. 6, n. 1, p. 15-22, 2001. In: FERBERG, I.; CABRAL, L.C.; GONÇALVES, E. B.; DELIZA, R. Efeito das condições de extração no rendimento e qualidade do leite de Castanha-do-Brasil despelculada. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 1, p. 75-88, jan.-jun. 2002.

BRAND-MILLER, J.C. Postprandial glycemia, glycemic index, and the prevention of type 2 diabetes. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 80, n. 2, p. 243-244, aug. 2004.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995. In: SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul.-set. 2010.

BRASIL. **Cenário das exportações de Castanha-do-Brasil 2000-2010**. Brasília: MAPA, 2010. 15p.

BRENNAN, A.M.; SWEENEY, L.L.; LIU, X.; MANTZOROS, C.S. Walnut consumption increases satiation but has no effect on insulin resistance or the metabolic profile over a 4-day period. **Obesity (Silver Spring)**, v. 18, p. 1176-1182, 2010.

CAMPOS, I; FILOCREÃO, A. S. A Gestão das Reservas Extrativistas no Sul do Amapá. Disponível em: <<http://www.anppas.org.br/encontro4/cd/ARQUIVOS/GT7-410-140-20080515155115.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2014.

CARVALHO, M. M. O. e ZORTHÉA, C. J. **Estudo comparativo da composição da paçoca utilizada como matéria-prima a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*)**. 2001. Monografia de especialização em tecnologia de alimentos - Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá e Universidade Federal do Amapá, Macapá-Amapá, 2001.

CASAS-AGUSTENCH, P.; LÓPEZ-URIARTE, P.; BULLÓ, M.; ROS, E.; CABRÉ-VILA, J. J.; SALAS-SALVADÓ, J. Effects of one served of mixed on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Disease, Milano**, v. 21, n. 2, p. 126-135, 2009. In: FERNANDES, D.C. **Efeito da Amêndoa de Baru, Amendoim e Castanha-do-Pará no Perfil Sérico e na Peroxidação de Lipídios em Ratos com Dieta Hiperlipídica**. 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2011.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas Comestíveis da Amazônia**. 5.ed. Belém: Editora CEJUP. 1991. 279 p.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D.R. **Bioquímica ilustrada**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 544 p.

CHANG, J. C.; GUTENMANN, W. H.; REID, C. M.; LISK, D. J. Selenium content of Brazil nuts from two geographic locations in Brazil. **Chemosphere**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 801-802, 1995.

CHAVES, N. **Valor nutritivo da castanha-do-pará**. Universidade Federal de Pernambuco, Instituto de Nutrição, fev. 1967. In: REGITANO-D'ARCE, M. A.; B.GLÓRIA, M. M. Concentrado e Isolado protéico de torta de Castanha-do-Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 2, 2000.

CHEN, H.W., LII C.K., OU C.C., WANG, M.L. Dietary fat and vitamin E have differential effects on serum lipid levels. **Nutr Res.**, v. 15, n. 9, p. 1367-1376, 1995.

CHOEN, K. O.; CHISTÉ, R. C.; MATHISAS, E. A. Elaboração de farinha de mandioca adicionada de farinha de Castanha-do-Brasil. **Comunicado Técnico**. Belém, PA. Dezembro, 2006.

CHUNHIENG, T. et al. Study of selenium distribution in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. **J. Agric.Food Chem.**, v. 52, p. 4318-4322, 2004. In: GONÇALVES, A.M. **Determinação e Fracionamento de Bário em Castanha-do-Pará**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, São Carlos, São Paulo, 2007.

CHUNHIENG,T.; HAFIDI, A.; PIOCH, D.; BROCHIER, J.; MONTET, D. Detailed Study of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) Oil Micro-Compounds: Phospholipids, Tocopherols and Sterols. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 19, n. 7, 1374-1380, 2008.

COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C.; GARRIDO, A. B.; COZZOLINO, S. M. F. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. **Nutrition Research**. v. 32, n. 6, p. 403-407, jun. 2012.

COOPERATIVA AGRO-EXTRATIVISTA DE XAPURI-AC, **Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*)**. Rio Branco: s.n.f., 2000.

DE BRUIN, T.W.; BROUWER, C.B.; GIMPEL, J.A.; ERKELENS, D.W. Postprandial decrease in HDL cholesterol and HDL apo A-I in normal subjects in relation to triglyceride metabolism. **American Journal Physiology**, v. 260, n. 3, p. E492-E498, 1 mar. 1991.

DE BRUIN, T.W.; BROUWER, C.B.; VAN LINE-SIBENIUS TRIP, M.; JANSEN, H.; ERKELENS, D.W. Different postprandial metabolism of olive oil and soybean oil: a possible mechanism of the high-density lipoprotein conserving effect of olive oil. **American Journal Clinical of Nutrition**, v. 58, p. 477-483, 1993.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPES, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science Nutrition**. v.40, n.3, p:173-289, Mai, 2000.

DÍAZ HUERTA, V.; FERNÁNDEZ SÁNCHEZ, M.L.; SANZ-MEDEL, A. Quantitative selenium speciation in cod muscle by isotope dilution ICP-MS with a reaction cell: comparison of different reported extraction procedures. **J Anal At Spectrom** v.19, p.644-8, 2004. In: FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; COLLINGS, R.; HURST, R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. **Am J Clin Nutr**. Printed in USA. v.91, suppl, p.1484S–91S, 2010.

DUARTE, H.S.; COSTA, N.M.B.; LEAL, P.F.G.; OLIVEIRA, T.T. Avaliação do efeito de sopas desidratadas ricas em fibras na redução do colesterol sanguíneo em ratos. **Revista de Nutrição** . Campinas. v. 11, n. 2, p. 149-161, 1998.

DUMONT, E; VANHAECKE F; CORNELIS, R. Selenium Speciation from food source metabolites: a critical review. **Bioanal.Chem.**, v.385, p.1304-1323, 2006.

EASTWOOD, M.A.; BRYDON, W.G.; BAIARD, J.D.; ELTON, R.A.; HELLIWELL, S.; SMITH, J.H. e PRITCHARD, J.L. Faecal weight and composition, serum lipids, and diet among subjects age 18 to years not seeking health care. **American. Journal Clinical Nutrition**. v. 40, p. 628-634, 1984. In: RAUPP, D.S.; MOREIRA, S.S.; BANZATTO, D.A.; SGARBIERI, V.C. Composição e propriedades fisiológicas de uma farinha rica em fibra insolúvel obtida do resíduo fibroso de feijão de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 19, n. 2, p. 205-210, 1999.

ENRÍQUEZ, G.; SILVA, M.A.; CABRAL, E. Biodiversidade da Amazônia: usos e potencialidades dos mais importantes produtos naturais do Pará. **NUMA/UFPA**, Belém, 2003. In: SANTOS, O.V. **Estudo das potencialidades da Castanha-do-Brasil: produtos e subprodutos**. 2011. 214 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2012.

FELBERG, I.; ANTONIASSI, R.; DELIZA, R.; FREITAS, S. C.; MODESTA, R. C. D. Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.29, n.3, p. 609-617, jul.-set. 2009.

FERNANDES, D.C. **Efeito da Amêndoa de Baru, Amendoim e Castanha-do-Pará no Perfil Sérico e na Peroxidação de Lipídios em Ratos com Dieta Hiperlipídica**. 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2011.

FERREIRA E. S., SILVEIRA, C.S.; LUCIEN, V.G.; AMARAL, A.S. **Caracterização Físico Química da Amêndoa, Torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto de Castanha-do- Brasil (*bertholletia excelsa* H.B.K.)** **Alim. Nutr.**, Araraquara. v.17, n.2, p.203-208, abr.-jun.,2006.

FEWTRELL, M. S.; PRENTICE, A.; *et al.* Bone mineralization and turnover in preterm infants 8-12 years of age: the effect of early diet. **J Bone Miner Res.** v.14, p.810-20, 1999.

FINLEY, J. W. Bioavailability of selenium from foods. **Nutrition Reviews**, New York, v. 64, n. 3, p. 146-512, 2006.

FOX, T.E., VAN DEN HEUVEL, E.G.H.M., ATHERTON, C.A., DAINITY, J.R., LEWIS, D.J., LANGFORD, N.J., CREWS, H.M., LUTEN, J.B., LORENTZEN, M., SIELING, F.W., VAN AKEN-SCHNYDER, P., FAIRWEATHER-TAIT, S.J., Bioavailability of selenium from fish, yeast and selenate: A comparative study in humans using stable isotopes. **European Journal of Clinical Nutrition.** v.58, p.343-349, 2004.

FRAGA, C.G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 235-244, 2005.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M.; The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Prog Lipid Res.** v.43, n.3, p.:228-65, Mai, 2004.

FREITAS, S. C.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; SANTOS, N. S. Selênio em castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*). **Comunicado Técnico, Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos**, v. 71, 2004. Disponível em: <<http://www.ctaa.embrapa.br/produtos/pdf/ct71-2004.pdf>>. Acesso em: 8 abr. 2008. In: FREITAS, S.C.; GONÇALVES, E.B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S.P P Meta-análise do teor de Selênio em Castanha-do-Brasil. **Braz. J. Food Technol.**, v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar. 2008.

FREITAS, S. C.; SIMAS, E. S.; ANTONIASSI, R. **Incidência de selênio e prospecção de bário em castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) provenientes do Acre**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Resumo**. Curitiba: CBCTA, 2006a. p. 1628. In: FREITAS, S.C.; GONÇALVES, E.B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S.P P Meta-análise do teor de Selênio em Castanha-do-Brasil. **Braz. J. Food Technol.** v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar., 2008.

FREITAS, S. C.; SIMAS, E. S.; ANTONIASSI, R. **Selênio e bário em castanha-do-brasil provenientes do Estado do Pará (*Bertholletia excelsa*)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Resumos**. Curitiba: CBCTA, p. 1627. (CD-ROM), 2006b. In: FREITAS, S.C.; GONÇALVES, E.B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S.P P Meta-análise do teor de Selênio em Castanha-do-Brasil. **Braz. J. Food Technol.** v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar., 2008.

FREITAS, S.C.; GONÇALVES, E.B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S.P P Meta-análise do teor de Selênio em Castanha-do-Brasil. **Braz. J. Food Technol.** v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar., 2008.

FUENTES, J.A.G. Que Alimentos Convêm ao Coração? Hospital Universitario San Carlos, Madrid, Espanha. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 53, 1998.

FUJIWARA, L. NELSON, D. Projeto Castanha-do-Brasil. 20 Experiências em Gestão Pública e Cidadania. **Programa Gestão Pública e Cidadania**. 1ª ed, São Paulo – SP, 2002.

FUNASAKI, M.; MENEZES, I. S.; BARROSO, H. S.; ZANOTTO, S.P.; CARIOCA, C. R. F. Tocopherol profile of Brazil nut oil from different geographic areas of the Amazon region. **Acta Amazonica**. Manaus, v.43, n.4, Dez., 2013.

GARAULET, M.; PÉREZ-LLAMAS, F.; PÉREZ-AYALA, M.; MARTÍNEZ, P.; MEDINA, F.S., TEBAR, F.J. *et al.* Site-specific differences in the fatty acid composition of abdominal tissue in an obese population from a Mediterranean area: relation with dietary fatty acids, plasma lipid profile, serum insulin, and central obesity. **Am J Clin Nutr.** v.74, n.5), p.585-91, 2001.

GARDNER, C.D.; KRAEMER, H.C. Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. **Arterioscler Thromb Vas Biol.** v.15, p.1917-1927, 1995. In: Ros, E., Mataix, J. Fatty acid composition of nuts—implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition.** v. 96, suppl 2, p.S29-S35, 2006.

GARG, M.L.; BLAKE, R. Cholesterol dynamics in rats fed diets containing either canola oil or sunflower oil. **Nutr Res.** v.17, n.3, p.485-92, 1997.

GATTI, E.; NOE, D.; PAZZUCCONI, F. Differential effects of unsaturated oils and butter on blood glucose and insulin response to carbohydrate in normals. **European Journal. Clinical of Nutrition.**, v. 46, p. 161-165, 1992.

GIBNEY, M.J.; VORSTER, H.H; KOK, F. J. **Introdução a Nutrição Humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. 317p.

GLÓRIA, M. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 240-245, 2000.

GONÇALVES, J.F. de C.; FERNANDES, A.V.; OLIVEIRA, A.F.M.; RODRIGUES, L.F.; MARENCO, R.A. Primary. metabolism components of seeds from Brazilian Amazon tree species. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v.14, n.2, p.139-142, 2002.

GRUNDY, S.M. e DENKE, M.A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **J. Lipid Research.**, v. 31, p. 1149-1172, 1990.

GUTIERREZ, E. M. R.; REGITANO-D ARCE, M. A. B.; RAUEN-MIGUEL, A. M. O. Estabilidade oxidativa do óleo bruto da castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*). **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 22-27, 1997. In: FREITAS, S.; FREITAS-SILVA, O.; MIRANDA, I.C.; COELHO, M.A.Z. Extração e fracionamento simultâneo do óleo da castanha-do-Brasil com etanol. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v.27, supl., p.14-17, ago. 2007.

HALIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **J.Neurochem.** v.59, p.1609-23, 1992. In: KARKOW, F. J. **Tratado de metabolismo humano**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2010. 1092p.

HARKNESS, J. e WAGNER, J.E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1993. 238 p.

HILL, J.O.; PETERS, J.C.; LIN, D.; YAKUBU, F.; GREENE, H.; SWIFT, L. Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. In: **J. Obesity.**, v.17, p.223-236, 1993. In: BIZEAU, M. E.; HAZEL, J. R. Dietary fat type alters glucose metabolism in isolated rat hepatocytes. **Journal of Nutrition Biochemistry**.v.10, p.709-715,1999.

HOUSSAY, B. **Fisiologia Humana**. Rio de Janeiro: Guanabara S.A., 1984.

HOWELL, W.H.; MCNAMARA, D.J.; TOSCA, M.A.; SMITH, B.T.; GAINES, J.A. Plasma lipid and lipoprotein responses to dietary fat and cholesterol: a meta-analysis. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 65, n. 6, p. 1747-1764, jun. 1997.

HUANG, Y.J.; FANG, V.S.; JUAN, C.C.; CHOU, Y.C.; KWOK, C.F.; HO, L.T. Amelioration of insulin resistance and hypertension in a fructose-fed rat model with menhaden oil supplementation. **Metabolism**, v.48, p. 1252-1258, 1997.

HUBER, L.S.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Quantitative variation in Brazilian vegetable sources of flavonols and flavones. *Food Chem* 2009;113(1):1278-82. In: COSTA, T.; JORGE, N. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde** v.13, n.3, p.195-203, 2011.

HUDGINS, L. C.; HELLERSTEIN, M. K.; SEIDMAN, C. E.; NEESE, R. A.; TREMAROLI, J. D.; HIRSCH, J. Relationship between carbohydrate-induced hypertriglyceridemia and fatty acid synthesis in lean and obese subjects. **Journal of Lipid Research**. v. 41, p. 595-604, 2000.

HUTH, P.J. **Nutritional aspects of soybean oil and soy proteins**. In: Erickson, DR. Practical handbook of soybean processing and utilization. **AOCS Press: USA**, cap. 23, p. 461-481, 1995. In : Almeida MEF, Queiroz JH, Queiroz MELR, Costa NMB, Matta SLP. Perfil lipídico tecidual de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Rev Nutr.**, v. 22, n. 1, p. 51-60, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Estimativas Populacionais para os municípios brasileiros**. 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: fev. 2014.

ISAKSSON, G.; LUNDQUIST, I.; IBSE, I. Effect of dietary fibre on pancreatic enzyme activity in vitro. The importance of viscosity, pH, ionic strength, adsorption and time of incubation. **Gastroenterology**, v. 82, p. 918-924, 1982 In: AREAS, M.A. **Estudo dos efeitos da polpa de laranja sobre parâmetros fisiológicos, nutricionais, bioquímicos e morfológicos em ratos normais e diabéticos**. 1994, 157f. Tese (Doutorado). UNICAMP, São Paulo, 1994.

JENKINS, D. J. A.; WOLEVER, T. M. S.; LEEDS, A. R.; GASSULL, M. A.; HAISMAN, P.; DILAWARI, J.; GOFF, D. V.; METZ, G. L.; ALBERT, K. G. M. Dietary fibers. Fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. **Br. Med. J.** v. 1, p. 1392-1394, 1978. In: AREAS, M.A. **Estudo dos efeitos da polpa de laranja sobre parâmetros fisiológicos, nutricionais, bioquímicos e morfológicos em ratos normais e diabéticos**. 1994, 157f. Tese (Doutorado). UNICAMP, São Paulo, 1994.

JENKINS, D. J.; KENDALL, C. W.; MARCHIE, A.; PARKER, T. L.; CONNELLY, P. W.; QIAN, W.; HAIGHT, J. S.; FAULKNER, D.; VIDGEN, E.; LAPSLEY, K. G. SPILLER, G. A. Dose response of almonds on coronary heart disease risk factors: blood lipids, oxidized low-density lipoproteins, lipoprotein(a), homocysteine, and pulmonary nitric oxide: a randomized, controlled, crossover trial. **Circulation**, v. 106, p. 1327-1332, 2002.

KIRKMEYER, S.V.; MATTES, R.D. Effects of food attributes on hunger and food intake. **International Journal of Obesity**, v. 24, p. 1167–1175, 2000. In: Ros, E., Mataix, J. Fatty acid composition of nuts—implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 2, p. S29-S35, 2006.

KLEIN, C. J. Nutrient requirements for preterm-infant formulas: 10. Minerals: calcium and phosphorus. **J Nutr.** v.136, 6 suppl.1, p.S1395-577, 2002.

KOTREBAI M, TYSON JF, UDEN PC, BIRRINGER M, BLOCK E. Selenium speciation in enriched and natural samples by HPLC-ICP-MS and HPLC-ESI-MS with perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents. **Analyst**. v.125, p.71-8, 2000.

KRIS-ETHERTON, P. M.; YU-POTH, S.; SABATÉ, J.; RATCLIFFE, H. E.; ZHAO, G.; ETHERTON, T. D. Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and factors that affect disease risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, n.3, p.504S-511S, 1999.

LECLERCQ, I.; HORSMANS, Y.; DESAGER, J.P.; DELZENNE, N.; GEUBEL, A.P. Reduction in hepatic cytochrome P-450 is correlated to the degree of liver fat content in animal models of steatosis in the absence of inflammation. **J Hepatol.** , v.28, n.3, p.410-6, 1998. In: ALMEIDA, M. E. F.; QUEIROZ, J.H.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 143-152, jan.-fev., 2011.

LEE, O.; MOON, J.; CHUNG, Y. The relationship between serum selenium levels and lipid profiles in adult women. **J Nutr Sci Vitaminol.** v.49, n.6, p.397-1904, 2003. In: STRUNZ, C. C.; OLIVEIRA, T. V.; VINAGRE, J. C. M.; LIMA, A.; COZZOLINO, S.; MARANHÃO, R. C. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoprotein, and high-density lipoprotein function in human subjects. *Nutrition Research*. v.28, n.3, p.151-5, 2008.

LEMIRE, M.; FILLION, M.; BARBOSA, J.R. F.; GUIMARÃES, J.R.; MERGLER, D. Elevated levels of selenium in the typical diet of Amazonian riverside populations. **Sci Total Environ.** v.408, p.4076–84, 2010a. In: LEMIRE, M.; PHILIBERT, A.; FILLION, M.; PASSOS, C.J.S.; GUIMARÃES, J.R.D.; BARBOSA JR., F.; MERGLER, D. No evidence of selenosis from a selenium-rich diet in the Brazilian Amazon. **Environment International.** v.40, p. 128-136, 2012.

LEMIRE, M.; MERGLER, D.; HUEL, G.; PASSOS, C.J.; FILLION, M.; PHILIBERT, A.; GUIMARÃES, J.R.; RHEAULT, L.; BORDUAS, J.; NORMAND, G. Biomarkers of selenium status in the amazonian context: blood, urine and sequential hair segments. **J Expo Sci Environ Epidemiol.** v.19, p.213-22, 2009. In: LEMIRE, M.; PHILIBERT, A.; FILLION, M.; PASSOS, C.J.S.; GUIMARÃES, J.R.D.; BARBOSA JR., F.; MERGLER, D. No evidence of selenosis from a selenium-rich diet in the Brazilian Amazon. **Environment International.** v.40, p. 128-136, 2012.

LEMOES, M.R.B. **Estudo comparativo de três farelos de arroz. Respostas biológica e nutricionais, testadas em ratos wistar.** 1999, 168f. Dissertação de Mestrado, Fundação Universidade Federal do Rio Grande - FURG. Rio Grande. R.S, 1999.

LI, H. F.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. **New Phytologist** v.178, p.92-102, 2008.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism action. **J Nutr.** v. 134, p. 3479S-3485S, 2004.

LOCATELLI, M. ET.AL. **Cultivo de Castanha-do-Brasil em Rondônia.** Rondônia: EMBRAPA, 2005.

LÓPEZ-URIARTE, P.; BULLÓ, M.; CASAS-AGUSTENCH, P.; BABIO, N.; SALAS-SALVADÓ, J. Nuts and oxidation: a systematic review. **Nutr Rev** v.67, p.497-508, 2009. In: ZAJDENWERG, C.; BRANCO, G. F.; ALAMED, J.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Correlation between sensory and chemical markers in the evaluation of Brazil nut oxidative shelf-life. **Eur Food Res Technol.** v.233, p.109-116, 2011.

LOVEJOY, J.C., MOST, M.M.; LEFEVRE, M.; GREENWAY, F.L.; ROOD, J.C. Effect of diets enriched in almonds on insulin action and serum lipids in adults with normal glucose tolerance or type 2 diabetes. **Am J Clin Nutr.** v.76, p.1000-6, 2002. In: ALEXIADOU, K.; KATSILAMBROS, N. Nuts: anti-atherogenic food? **European Journal of Internal Medicine.** v.22, p.141-146, 2011.

MAHAN, L. K.; ARLIN, M. T. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia.** 11 ed. São Paulo: Roca, p. 38-40, 2005.

MALDONADO-ROBLEDO, G.; RODRIGUEZ-BUSTAMANTE, E.; SANCHEZ-CONTRERAS, A.; RODRIGUEZ-SONOJA, R.; SANCHEZ, S.; **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v.62, p. 484, 2003.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. **Current Opinion Lipidology**, v. 16, n. 1, p. 77-84, 2005.

MARANHÃO, P. A.; KRAEMER-AGUIAR, L. G.; OLIVEIRA, C. L.; KUSCHNIR, M. C. C.; VIEIRA, Y. R.; SOUZA, M. G. C.; KOURY, J. C.; BOUSKELA, E. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents: a randomized controlled trial. **Nutrition e Metabolism**, v. 8, n. 1 p.32. 2011.

MATTES, R. D.; DREHER, M. L. Nuts and healthy body weight maintenance mechanisms. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 137-141. 2010.

MEDEIROS, M. J.; OLIVEIRA, P. A. A. C.; SOUZA, J. M. L.; SILVA, R. F.; SOUZA, M. L. Composição química de misturas de farinhas de banana verde com castanha-do-brasil. **Rev Inst Adolfo Lutz**. v.69, n.3, p.396-402, 2010.

MENENDEZ, R.C. Animales de laboratório en las investigaciones biomédicas. Cuba, La Habana: Editorial **Ciências Médicas**, p. 203, 1985. In: JONG, E.V. **Influência de dietas normo e hiperlipêmicas sobre o perfil nutricional, parâmetros bioquímicos séricos e estruturais do fígado de ratos wistar**. 1996, 140f. Tese (Doutorado). UNICAMP. São Paulo, 1996.

MENEZES, H.C.; SOUZA, M. L. Extrusão de misturas de castanha do Brasil com mandioca. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 451-462, abr.-jun., 2008.

MENEZES, H.C.; SOUZA, M. L. Processamentos de amêndoa e torta de Castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 120-128, jan.-mar. 2004.

MENSINK, R. P.; KATAN, M. B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 27 trials. **Arterioscler. Tromb.** v.12, p. 911-919, 1992.

MIESENBOCK, G.; PATSCH, J. R. Postprandial hyperlipemia: the search for the atherogenic lipoprotein. **Curr. Opin Lipidol.** v. 3, p. 196-201, 1992. In: THOMSEN, C.; RASMUSSEN, O.; LOUSEN, T.; HOLST, J. J.; FENSELAU, S.; SCHREZENMEIR, J.; HERMANSEN, K. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. **American Journal Clinical of Nutrition**, v. 69, p. 1135-1143, 1999.

MIRALIAKBARI, H.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. **Food Chemistry**. v.111, p. 421- 427, 2008.

MONSMA, C.C.; GALLAHER, D.D.; NEY, D.M. Reduced digestibility of beef tallow and cocoa butter affects bile acid excretion and reduces hepatic esterified cholesterol in rats. **J Nutr.** v.126, n.8, p.2028-35, 1996.

MORAIS, C. S. N.; BARCELOS, M. F. P.; SOUSA, R. V.; LIMA, H. M.; LIMA, A. L. Efeitos das fontes e níveis de lipídeos nas dietas de ratos machos da linhagem Wistar (*rattus norvegicus*) sobre frações lipídicas do sangue **Ciênc. agrotec.**, Lavras. v.27, n.5, p.1082-1088, set.-out., 2003.

MULLER, C. H. A Castanha-do-Brasil, estudos agrônômicos. Belém: **EMBRAPA-CPATU**, 1981, 25f.

MULLER, C. H.; FIGUEIREO, F. J. C.; CARVALHO, J. E. U. Características comparativas entre frutos e sementes de Castanha-do-Brasil. Belém. **EMBRAPA-CPATU**, 1995. 21f.

NAGAOKA, S.; AWANO, R.; NAGATA, N.; MASAOKA, M.; HORI, G.; HASHIMOTO, K. Serum cholesterol reduction and cholesterol absorption inhibition in Caco-2 cells by a soyprotein peptic hydrolizate. **Bioscience. Biotechnology. Biochemistry**. v. 61, p. 354-356, 1997.

NAOZUKA, J.; OLIVEIRA, P. V. estudo da distribuição de Cu, Fe, Mn e Se em frações protéicas de Castanha do Pará. **13^o Encontro Nacional de Química Analítica**. Niterói: 2005. In: GONÇALVES, A.M. **Determinação e Fracionamento de Bário em Castanha-do-Pará**. 2007, 98f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR. São Carlos. São Paulo, 2007.

NASSIR, F.; ZIMOWSKA, W.; BAYLE, D.; GUEUX, E.; RAYSSIGUIER, Y.; MAZUR, A. Hypoalbuminaemia in acute phase is not related to depressed albumin synthesis: experimental evidence in magnesium-deficient rat. **Nutr Res**. v.22, n.4, p.489-96, 2002.

NESTEL, P. Saturated and trans fatty acids and coronary heart disease. **European Heart Journal Supplements**, v. 1, p. S19-S23, 1999.

NORUN, K.R. **Dietary fat and blood lipids**. Nutrition Reviews, New York, v.50, n.4, p.30-37, 1992.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. São Paulo: Roca, 1998. 297 p. In: FREITAS, S. C.; GONÇALVES, E. B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S. P. Meta-análise do teor de selênio em castanha-do-Brasil. **J. Food Technol.**, v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar. 2008.

OSBORNE, T.B.; The vegetable proteins. Monographs on Biochemistry, London: Longmans Green Co., 1918, 125p. In: GLÓRIA, M. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 240-245, 2000.

PACHECO A. M.; SCUSSEL V. M. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the Amazon basin. **J Agric Food Chem**. v.55, p.11087-11092, 2007.

PECHNIK, E; GUIMARÃES, L.R. Alguns representantes do reino vegetal portadores de elevado potencial vitamínico A. **Trabalhos e Pesquisas**, v. 6, p. 65-77, 1962.

PELUFFO, R. O.; NERVI, A. B.; GONZALEZ, M. S.; BRENNER, R. R. Effects of different amino acid diets on $\Delta 5$, $\Delta 6$ and $\Delta 9$ desaturases. **Lipids**. v. 19, p. 154-157, 1984.

PORTILLO, M.P.; TUEROS, A.I.; PERONA, J.S.; RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; TORRES, I.; MACARULLA, M.T. Modifications induced by dietary lipid source in adipose tissue phospholipids fatty acids and their consequences in lipid mobilization. **Br J Nutr**. v.82, n.4, p.319-27, 1999..In: Almeida MEF, Queiroz JH, Queiroz MELR, Costa NMB, Matta SLP. Perfil lipídico tecidual de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Rev Nutr**. v.22, n.1, p.51-60, 2009.

RAYMAN, M.P.; INFANTE, H.G.; SARGENT, M. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. **Br J Nutr**. v.100, p.238-53, 2008.. In: FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; COLLINGS, R.; HURST, R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. **Am J Clin Nutr**. Printed in USA. v.91(suppl), p.1484S–91S, 2010.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **The Lancet**., v. 356, n. 9225, p. 233–241, 2000.

RIGO J.; CURTIS, M., *et al*. Bone mineral metabolism in the micropremie. **Clin Perinatol**. v.27, p.147-70, 2000.

ROBBINS, K. S.; SHIN, E.C; SHEWFELT, R. L.; EITENMILLER, R.R.; PEGG, R. B. Update on the Healthful Lipid Constituents of Commercially Important Tree Nuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 12083–12092. 2011.

ROGERS, A. e NEWBERNE, P.M. Animal model of human disease. *American Journal of Pathology*, Philadelphia, v.73, n.7, p.817-820, 1973 In: JONG, E.V. **Influência de dietas normo e hiperlipêmicas sobre o perfil nutricional, parâmetros bioquímicos séricos e estruturais do fígado de ratos wistar**. 1996, 140f. Tese (Doutorado). UNICAMP. São Paulo, 1996.

ROGEZ, H. Primeiro Seminário do Projeto “Estudo pluridisciplinar sobre a valorização de frutas Amazônicas e de seus derivados”, **VII Castanha do Pará**, Belém, Brasil, jan., 1995. In: JR. MARSAIOLI, A.; SILVA, F.A. Aspecto econômico de um processo de secagem de amêndoas de Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) assitida a microondas. *Revista de Ciências Exatas e Naturais*, v.5, n.2 jul-dez, 2003.

ROS, E., MATAIX, J. Fatty acid composition of nuts—implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition** v.96, suppl 2, p.S29-S35, 2006.

ROTENBERG, B. & IACHAN, A. **Estudo da proteína da castanha-do-pará**. Informativo do Instituto Nacional de Tecnologia (INT), v. 8, n. 7, p. 22-24, 1975.

SABATÉ, J.; HADDAD, E.; TANZMAN, J.S.; JAMBAZIAN, P.; RAJARAM, S. Serum lipid response to the graduated enrichment of a Step I diet with almonds: a randomized feeding trial. **Am J Clin Nutr**. v.77, p.1379-84, 2003. In: ALEXIADOU, K.; KATSILAMBROS, N. Nuts: anti-atherogenic food? **European Journal of Internal Medicine**. v.22, p.141-146, 2011.

SANTOS, J.C.A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; BARROS, C.S.L., Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 1-14 , 2008.

SANTOS, O.V.; LOPES, A.S.; AZEVEDO, G. O.; SANTOS, A. C. Processing of Brazil-nut flour: characterization, thermal and morphological analysis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**Campinas. v.30 (Supl.1), p. 264-269, maio, 2010.

SANTOS, O. V. **Estudo das potencialidades da castanha-do-brasil:produtos e subprodutos** 2011. 214 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SCHENEEMAN, B.; GALLAHER, D. Effects of dietary fiber on digestive enzymes. In: SPILLER, G.A. (ed), Handbook of dietary Fiber in Human Nutrition. **CRC Press**. Boca Raton, p. 305-312, 1986.

SÉROUGNE, C.; FELGINES, C.; FÉRÉZOU, J. HAJRI, T. BERTIN, C. and MAZUR, A. Hypercholesterolemia induced by cholesterol- or cystine enriched dietas is characterized by different plasma lipoprotein and apolipoprotein concentrations in rats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.125, n.1, p.34-41, 1995.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Lancaster: Technomic**; 1995. In: COSTA, T.; JORGE, N. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**. v.13, n.3, p.195-203, 2011.

SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS. A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9.ed. São Paulo: Manole, v. 1, 2003. 2106 p.

SIES H, STAHL W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.62, n.6, p.:1315-21, 1995..

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R.; SOUZA, J. M. L. Influência do processo de beneficiamento na qualidade de amêndoas de Castanha-do-Brasil. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 445-450, mar.-abr., 2010.

SINATRA, S. T.; DeMARCO, J. Free radicals, oxidative stress, oxidized low density lipoprotein (LDL) and the heart: antioxidants and other strategies to limit cardiovascular damage. **Conn Med**, v. 59, n. 10, p. 579-88, 1995. In: Avaliação dos níveis de hiper-homocisteinemia, vitamina E, selênio, cobre, ceruloplasmina e ferritina em pacientes com diagnóstico de acidente vascular cerebral isquêmico. **J Bras Patol Med Lab** • v. 43, n. 1, p. 9-15, fev., 2007.

SIRÓ I, KÁPOLNA E, KÁPOLNA B, LUGASI A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance: a review. **Appetite** v.51, n.3, p.456-67, 2008.. In: COSTA, T.; JORGE, N. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**. v.13, n.3, p.195-203, 2011.

SOUZA, J.M.L.; CARTAXO, C. B. C.; LEITE, F. M. N. **Manual de segurança e qualidade para a cultura da Castanha-do-Brasil**. Rio Branco- AC: Embrapa Acre, 2004. 48p.

SPAGNOLO, A.; MORISI, G.; MARANO, G.; RIGHETTI, G.; MAIETTA, A.; MENOTTI, A. Serum selenium and precursors of cardiovascular risk factors in adolescents. **Eur J Epidemiol**. v.7, n.6, p.654-7, 1991. In: STRUNZ, C. C.; OLIVEIRA, T. V.; VINAGRE, J. C. M.; LIMA, A.; COZZOLINO, S.; MARANHÃO, R. C. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoprotein, and high-density lipoprotein function in human subjects. **Nutrition Research**. v.28, n.3, p.151-5, 2008.

SPILLER, G.A.; JENKINS, D.A.; BOSELLO, O.; GATES, J.E.; CRAGEN, L.N.; BRUCE, B. Nuts and plasma lipids: an almond-based diet lowers LDL-C while preserving HDL-C. **J. Am. Coll Nutr**. v.17, p.285-90, 1998. In: ALEXIADOU, K.; KATSILAMBROS, N. Nuts: anti-atherogenic food? **European Journal of Internal Medicine**. v.22, p.141-146, 2011.

SRUR, A. D. O. S. **Processamento da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K)**. 1976. 59f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, São Paulo. 1976.

STAHL, W.; VAN DEN BERG, H.; ARTHUR, J.; BAST, A. Dainty, J., Faulks, R. M., et al. Bioavailability and metabolism. **Molecular Aspects of Medicine**, v.23, p.39-100, 2002. In: THIRY, C.; RUTTENS, A.; DE TEMMERMAN, L.; SCHNEIDER, Y. J.; PUSSEMIER, L. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food **Food Chemistry**. v.130, p. 767-784, 2012.

STEEN A, STROM T, BERNHOFT A. Organic selenium supplementation increased selenium concentrations in ewe and newborn lamb blood and in slaughter lamb meat compared to inorganic selenium supplementation. **Acta Vet Scand**. V.5, p.7, 2008.. In: FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; COLLINGS, R.; HURST, R. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. **Am J Clin Nutr**; Printed in USA. v.91, p.1484S-91S, 2010.

ST-ONGE, M.P. Dietary fats, teas, dairy, and nuts: potential functional foods for weight control? **American Journal Clinical Nutrition**, v. 81, p. 7-15, 2005.

STRUNZ, C. C.; OLIVEIRA, T. V.; VINAGRE, J. C. M.; LIMA, A.; COZZOLINO, S.; MARANHÃO, R. C. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoprotein, and high-density lipoprotein function in human subjects. **Nutrition Research**, v. 28, n. 3, p.151-155, 2008.

SUCKLING, K. E.; JACKSON, B. Animal models of human lipidic metabolism. **Progress in Lipid Research**. Elmsford. v. 32, n. 1, p.1-24, 1993.

SUFRAMA. Projeto potencialidades regionais. Estudo de viabilidade econômica. plantas para uso medicinal e cosmético. **Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Superintendência da Zona Franca de Manaus SUFRAMA**. Manaus- Amazonas, 2003.

SULIBURSKA, J.; KREJPCIO, Z. Evaluation of the content and bioaccessibility of iron, zinc, calcium and magnesium from groats, rice, leguminous grains and nuts J **Food Sci Technol**. DOI 10.1007/s13197-011-0535-5, 2011.

SUZUKI, Y.; HASHIURA, Y.; MATSUMURA, K.; MATSUKAWA, T.; SHINOHARA, A.; FURUTA, N. Dynamic pathways of selenium metabolism and excretion in mice under different selenium nutritional stresses. **Metallomics**, v. 2, p. 126–132, 2009. In: THIRY, C.; RUTTENS, A.; DE TEMMERMAN, L.; SCHNEIDER, Y. J.; PUSSEMIER, L. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. **Food Chemistry**, v. 130, p. 767–784, 2012.

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP NEPA-UNICAMP. 4 ed. 2011.156p.

THIRY, C.; RUTTENS, A.; DE TEMMERMAN, L.; SCHNEIDER, Y. J.; PUSSEMIER, L. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. **Food Chemistry**. v.130, p.767-784, 2012.

THOMSEN, C.; *et al.* Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. **American Journal Clinical of Nutrition**, v. 69, p. 1135-1143, 1999.

THOMSON, C.D.; CHISHOLM, A.; MCLACHLAN, S.K.; CAMPBELL, J.M. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. **Am J Clin Nutr.**, v. 87, n. 2, p. 379-84, 2008.

TINGGI, U. **Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review**. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 137, n. 1-2, p. 103-110, 2003. In: FREITAS, S. C.; GONÇALVES, E. B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S. P. Meta-análise do teor de selênio em castanha-do-brasil Braz. J. **Food Technol.**, v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar., 2008.

TOPPING, D. L. Soluble fiber polysaccharides: effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. **Nutrition Reviews**. v. 49, p. 195-203, 1991. In: Vivian R. FIETZ, V.R.; SALGADO, J. M. Efeito da pectina e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos hiperlipidêmicos. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. Campinas, v.19, n.3, set-dez., 1999.

TORSDOTTIR, I.; ALPSTEN, M.; ANDERSON, H.; EINARSSON, S. Dietary guar gum effects on postprandial blood glucose, insulin and hydroxyproline in humans. **Journal. Nutrition**. v. 119, p. 1925-1931, 1989.

TRINDADE, C. E. Importância dos minerais na alimentação do pré-termo extremo. **J. Pediatr. (Rio J.)**. v.81, n.1, supl.1, Porto Alegre mar. 2005.

TSAO, R. Review. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. **Nutrients**. v. 2, p. 1231-1246, 2010.

TURLEY, S.D.; DAGGY, B.P.; DIETSCHY, J. Cholesterol-lowering action of psyllium mucilloid in the hamster: sites and possible mechanisms of action. **Metabolism**. v. 40, p. 1063-1073, 1991.

- VENKATACHALAM, M.; SATHE, S. K. Chemical composition of selected edible nut seeds. **J Agric Food Chem** v.54, p.4705-4714, 2006. In: ZAJDENWERG, C.; BRANCO, G. F.; ALAMED, J.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Correlation between sensory and chemical markers in the evaluation of Brazil nut oxidative shelf-life. **Eur Food Res Technol.** v.233, p.109-116, 2011.
- VERNON, R.G. Effects of diet on lipolysis and its regulation. **Proceedings of the Nutriion Society**, v. 51, n.3, p.397-408, 1992. In: JONG, E.V. **Influência de dietas normo e hiperlipêmicas sobre o perfil nutricional, parâmetros bioquímicos séricos e estruturais do fígado de ratos wistar**. 1996.140f. Tese (Doutorado)-UNICAMP, São Paulo, 1996.
- WADDELL, C.A.; DESAI, I.D. The use of laboratory animals in nutrition research. **World Review of Nutrition and Diets**, London, v.36, p. 206-222, 1981.
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Total antioxidant capacity of fruits. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44, p. 701-705, 1996. In: Tsao, R. Review. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. **Nutrients**. v.2, p.1231-1246, 2010.
- WHANGER, P. D. Selenium and its relationship to cancer: an update. **British Journal of Nutrition, Cambridge**, v. 91, n. 1, p. 11-28, 2004. In: FREITAS, S. C.; GONÇALVES, E. B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S. P. Meta-análise do teor de selênio em castanha-do-brasil Braz. **J. Food Technol.**, v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar., 2008.
- WOOLLETT, L.A.; SPADY, D.K.; DIETSCHY, J.M. Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. **J. Lipid. Res.**, v. 33, p. 77–88, 1992. In: Ros, E., Mataix, J. Fatty acid composition of nuts—implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**, v. 96, Suppl. 2, p. S29-S35, 2006.
- YANG, J., LIU, R. H., e HALIM, L.. Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. **Food Science e Technology Lebensmittel-Wissenschaft- Tech.** v.42, p.1–8, 2009.
- YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **Food Science and Technology**. v.42, p.1573–1580, 2009.
- YANIV, Z.; SCHAFFERMAN, D.; SHAMIR, I.; MADAR, Z. Cholesterol and triglyceride reduction in rats fed *matthiola incana* seed oil rich in (n-3) fatty acids. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 47, p. 637-642, 1999.
- YIN, H., SATHIVEL, S. Physical properties and oxidation rates of unreWned Menhaden oil (*Brevoortia patronus*). **J Food Sci.**, v.75, p.E163-E168, 2010. In: ZAJDENWERG, C.; BRANCO, G. F.; ALAMED, J.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Correlation between sensory and chemical markers in the evaluation of Brazil nut oxidative shelf-life. **Eur Food Res Technol** v.233, p.109-116, 2011.
- YOKOYA, F.; ANTUNES, A. J.; JORDÃO, B. A. Deterioração da Castanha-do-Pará: armazenamento das castanhas. **Revista Brasileira de Tecnologia**, v.2, p. 117-120, 1971.

YOKOYA, F.; ANTUNES, A.J. e JORDÃO, B.A. Deterioração de castanha do Pará: I – Armazenamento das amêndoas. **Revista Brasileira de Tecnologia**, São Paulo, v.I, n.I, p.17-21, 1970. In: BAGGIO, C.E.; LIMA, U.A.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; RIBEIRO, M.A.A. Armazenamento da Castanha do Pará com e sem casca: efeito da temperatura na resistência ao ranço. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, ESALQ/USP - Piracicaba,SP. **Sci. Agric.**, Piracicaba, 50(3):343-348,outubro/dezembro,1993.

YU-POTH, S.; ZHAO, G.; ETHERTON, T.; NAGLAK, M.; JONNALAGADDA, S.; KRIS- ETHERTON, P.M. Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors: a meta-analysis. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 69, p. 632–646, 1999. In: Ros, E., Mataix, J. Fatty acid composition of nuts–implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**, v. 96, suppl. 2, p. S29-S35, 2006.

ZAJDENWERG, C.; BRANCO, G. F.; ALAMED, J.;DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. **Correlation between sensory and chemical markers in the evaluation of Brazil nut oxidative shelf-life.** **Eur Food Res Technol.** v.233, p.109–116, 2011.

ZENG, H.; BOTNEN, J. H.; JOHNSON, L. K. A selenium-deficient Caco-2 cell model for assessing differential incorporation of chemical or food selenium into glutathione peroxidase. **Biological Trace Element Research**, v.123, p.98–108. 2008. In: THIRY, C.; RUTTENS, A.;DE TEMMERMAN, L.; SCHNEIDER, Y. J.; PUSSEMIER, L. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food **Food Chemistry** v.130, p. 767–784,2012.

ZIMMERMANN, A. M.; KIRSTEN, V.R. Alimentos com Função Antioxidante em Doenças Crônicas: Uma Abordagem Clínica. **Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 51-68, 2008.

CAPÍTULO II - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FITOQUÍMICA DE PRODUTOS DA CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)

1. INTRODUÇÃO

A Amazônia consiste em uma das maiores reservas biológicas do mundo, contendo um quinto de água doce líquida e corrente disponível, e um terço das florestas latifoliadas (EMBRAPA, 2003). É reconhecida por conter metade de todas as espécies vivas do planeta, já tendo sido identificadas pelo menos 60 mil espécies vegetais (MMA/SCA 1997). A preservação deste patrimônio de biodiversidade é muito importante, pois representa uma fonte de conhecimento de compostos químicos e material genético, os quais são de suma importância para o desenvolvimento de produtos alimentícios e medicinais (AGENDA 21 BRASILEIRA, 2000).

O Estado do Amapá está situado no extremo norte do Brasil e está incluído na porção Amazônica que representa atualmente viável potencial oferecido pela sua grande variedade e diversidade em matéria-prima (VILLACHICA, 1996).

Atualmente a utilização dos frutos nativos da região amazônica, tem se constituído como uma forma de obtenção de macro e micronutrientes de importância nutricional. Dentre estas a Castanha-do-Brasil, considerada uma das espécies nativas com potencial de utilização alimentícia (MULLER, 1995).

Esta oleaginosa apresenta características peculiares quanto a sua composição química e nutricional, pois é rica em proteínas, contendo aminoácidos essenciais, ácidos graxos poliinsaturados, como o linoléico de grande valor nutricional, minerais como selênio, cálcio, fósforo, magnésio, além de vitaminas do complexo B (SOUZA, 2004).

A qualidade da Castanha-do-Brasil tem sido amplamente reafirmada, no entanto praticamente não se tem estudos da qualidade da Castanha-do-Brasil oriunda do Estado do Amapá.

Desta forma, a partir do conhecimento das potencialidades apresentadas pela biodiversidade local no que tange ao reconhecimento e melhor aproveitamento de

alimentos regionais, este estudo se propõe a identificar as características físico-químicas da amêndoa, da farinha e do óleo extraído da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) nativos da cidade de Laranjal do Jarí, no estado do Amapá.

2.0 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Infraestrutura

A caracterização físico-química foi desenvolvida no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas-UFPEL, Pelotas/RS e a análise da concentração de selênio, no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande/RS.

2.2 Matéria-prima

As matérias-primas utilizadas foram amêndoa, farinha e óleo de Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), provenientes do município de Laranjal do Jarí-AP, produzidas no período de dezembro 2010 à junho de 2011, e doadas pela Cooperativa Mista dos Produtores Agroextrativistas da Reserva do Rio Jarí - COMAJA, Município do Laranjal do Jarí no Estado do Amapá.

As amostras de amêndoa, cerca de 10 kg, foram acondicionadas em embalagens transparentes de polietileno, e armazenadas a -18°C até o momento das análises.

O óleo foi obtido na Cooperativa através de processo físico de extração a frio das amêndoas por prensagem semicontinua em prensa hidráulica, a 25°C . O óleo foi acondicionado em recipientes de vidro âmbar, cinco recipientes com cerca 400 mL cada, e armazenado sob congelamento (-18°C) até o momento das análises.

As amostras de farinhas, (cerca de 10 kg) foram obtidas da massa resultante da extração por prensagem das amêndoas de castanhas. A massa resultante da extração do óleo foi submetida à secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 60°C , até atingir umidade em torno de 3%. Após as amostras foram embaladas em sacos metalizados apropriados (capacidade para 1kg), impermeáveis ao ar e à umidade, e selados em máquina com aplicação de vácuo. As amostras foram congeladas (-18°C) até o momento das análises.

2.3 Determinação do peso da amêndoa

Para a determinação do peso médio das amêndoas, 50 (cinquenta) unidades, foram pesadas em balança analítica da marca QUIMIS ($\pm 0,1$ mg) , relacionando-se o peso total pelo número de castanhas. As determinações foram feitas em triplicata, e os resultados foram expressos em gramas.

2.4 Determinação proximal da amêndoa e da farinha

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e expressas em g.100g^{-1} e o valor energético total expresso em Kcal.100g^{-1} .

Determinação de Proteínas

As proteínas foram determinadas pelo método de Micro Kjeldahl (A.O.A.C., 1997), utilizando o fator de conversão de nitrogênio para proteína de 5,46.

Determinação de Fibras

A determinação das fibras foi realizada pelo método que quantifica como fibra a perda por incineração do resíduo seco remanescente após digestão da amostra com ácido sulfúrico (H_2SO_4) e hidróxido de sódio (NaOH) diluídos (A.O.A.C., 1997).

Determinação de Cinzas

As cinzas foram analisadas pelo método que se fundamenta na eliminação da matéria orgânica e inorgânica volátil, à temperatura de 550 à 600°C (A.O.A.C., 1997).

Determinação de Lipídios

Os lipídios foram determinados, segundo o método de Soxhlet (A.O.A.C. 1997).

Determinação de Umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico, baseado na perda de peso por dessecação em estufa, à temperatura de 105°C, até peso constante (A.O.A.C. 1997).

Determinação de Carboidratos

Os carboidratos foram calculados por meio do cálculo de diferença centesimal dos constituintes da amostra: diminuindo de 100 o somatório dos percentuais de proteínas, extrato etéreo, cinzas, umidade e fibra alimentar total, de acordo com a RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003 (ANVISA, 2003).

Valor Energético Total

O valor calórico foi estimado utilizando-se os fatores de conversão de ATWATER: 4 kcal.g⁻¹ para proteínas, 4 kcal g⁻¹ para carboidratos e 9 kcal.g⁻¹ para lipídios, de acordo com a Resolução RDC nº 360, de 23 de Dezembro de 2003 (ANVISA, 2003).

2.5 Determinação de selênio

A determinação de selênio nas dietas, plasma sanguíneo e fígado, foram realizadas por espectrometria de emissão atômica por Plasma indutivamente acoplado (ICPOES), (Perkin Elmer, modelo Optima 2100 DV, USA) equipado com um nebulizador concêntrico com câmara de nebulização ciclônica (ANGELUCCI e MANTOVANI, 1986).

Preparo da amostra - As amostras de castanha foram trituradas em um processador de alimentos (Walita, modelo mega master RI 3170, 500 W), e mantidas em dessecador, com a finalidade de não absorver a umidade do ar. Seguiu-se a digestão em bloco digestor (Marconi, modelo MA 4025, Piracicaba, Brasil), com capacidade para quarenta tubos. Para a digestão das amostras foram pesados entre 0,4 e 0,5 g, nas quais foi adicionado 5 mL de HNO_3 65 % (m/v) (Merck). A temperatura inicial do bloco foi de 40°C com uma rampa de aquecimento de 15 °C a cada trinta minutos. Após 1 hora de aquecimento a 130°C foi adicionado 1 mL de H_2O_2 concentrado (Synth) e sob aquecimento por mais 4 horas, totalizando 8 horas de digestão. Estes digeridos foram aferidos a 50 mL com água ultrapura. Estas condições severas de digestão foram necessárias devido ao elevado teor de óleo presente nas amostras.

Procedimento de quantificação - A quantificação foi feita através de um espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES) (Perkin Elmer, modelo Optima 2100 DV, USA) equipado com um nebulizador concêntrico com câmara de nebulização ciclônica. Inicialmente, foi feito um ajuste de forma univariada dos parâmetros de operação do ICP OES, conforme tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Parâmetros de operação do ICPOES

Parâmetros	Valor
Potência do gerador de RF (W)	1300
Vazão de Ar: Gás do plasma (L min^{-1})	15
Gás auxiliar (L min^{-1})	0,2
Gás do nebulizador (L min^{-1})	0,8
Linha espectral (nm)	196,026

Foi feita uma curva de calibração de 5 a 150 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a partir de uma solução estoque multi-elementar SCP33MS de 10 mg.L^{-1} contendo Selênio (SCP Science, UK) com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,99994. Para a avaliação da exatidão e precisão do método empregado foi determinada a concentração de

selênio em um material de referência certificado (CRM). O CRM foi submetido ao mesmo programa de aquecimento utilizado para as amostras.

2.6 Caracterização do óleo da amêndoa

Densidade Relativa

A densidade foi determinada por leitura direta em densímetro (MORETTO e FETT, 1998) e expressa em g.mL^{-1} .

Índice de Refração

O índice de refração foi determinado a 20°C em refratômetro ABBE, marca ATTO modelo 2WAJ (MORETTO e FETT, 1998).

Índice de Peróxido

O índice de peróxido foi determinado pelo método Cd 8b-90 da AOCS (1998) e expresso em mEq.Kg^{-1} .

Índice de Acidez

O índice de acidez, expresso em mg KOH.g^{-1} de amostra foi determinado segundo metodologia da AOCS (2004).

Índice de Saponificação

O índice de saponificação foi determinado pelo número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar um grama de gordura (A.O.A. C, 1997).

Composição dos Ácidos Graxos do Óleo da Castanha-do-Brasil

O procedimento adotado para a metilação de ácidos graxos teve como método o descrito por HARTMAN e LAGO (1973) com pequenas modificações descritas por MAIA (1992), onde se adiciona a 50 mg de amostra e 4 mL do reagente de saponificação (KOH 0,5 M em metanol anidro).

Após a agitação em agitador de tubos e banho fervente por 3-5 minutos, se adicionou 5 mL do reagente de esterificação (NH_4Cl em MeOH e H_2SO_4), posteriormente foi levado ao banho novamente por 5 minutos. Em seguida, houve adição de 4 mL de solução de NaCl saturado, os tubos foram agitados e a seguir colocou-se 5 mL de éter de petróleo PA. Após a agitação por 30 segundos, se deixou em repouso para separar as fases. A fração superior (orgânica) foi retirada com pipeta e mantida em frasco com tampa em freezer (-10°C) para posterior injeção no cromatógrafo.

O cromatógrafo gasoso utilizado foi o CGC AGILENT 6850 SERIES, provido de coluna capilar DB-23 AGILENT (50% cyanopropyl - methylpolysiloxane, dimensões 60 m, diâmetro interno de 0,25 mm, 0,25 μm filme). As condições de operação foram: fluxo coluna = 1,00 mL/min.; Velocidade linear = 24 cm/seg; temperatura do detector: 280°C ; temperatura do injetor: 250°C ; temperatura do forno: 110°C - 5 minutos, $110 - 215^\circ\text{C}$ ($5^\circ\text{C}/\text{min.}$), 215°C - 24 minutos; Gás de arraste: Hélio; Volume injetado: 1 μL .

Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção dos picos da amostra e dos padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos. A quantificação se deu por padronização externa com a normalização da área dos picos registrados.

2.7 Conteúdo de compostos bioativos

Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos foram extraídos de acordo com o método descrito por Montedoro *et al.* (1992), com modificações. Pesou-se 2,50 g de óleo e adicionou-se 2,0 mL de metanol: água (70 : 30) e 2,0 mL de hexano. Agitou-se em vigorosamente

por 1,0 minutos e manteve-se sob agitação por 20 minutos. Após este período realizou-se a centrifugação das amostras a 7000 g a 4,0°C por 10 minutos em centrífuga Eppendorf 5430 R. A fase hidroalcóolica foi coletada e novamente centrifugada a 7000 g e a 4,0°C por 4 minutos. A fase hidroalcóolica foi coletada para balão volumétrico de 2,0 mL e avolumada com metanol: água (70: 30).

A determinação do total de compostos fenólicos foi realizada pela reação colorimétrica descrita por Gambacorta *et al.* (2010). Adicionou-se 100 µL do extrato hidroalcóolico em tubo de Falcon, seguido da adição de 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu 2,0 mol.L⁻¹ e após 4 minutos, acrescentou-se 800 µL de carbonato de sódio 5,0 %. A mistura foi mantida em banho-maria por 20 minutos a 40°C e a leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, no comprimento de onda 750 nm. Para quantificação, foi construída curva de concentração de padrão de ácido gálico, com leitura de absorbância a 750 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico por 100g de amostra.

Conteúdo de carotenóides totais

O total de carotenóides foi determinado utilizando a metodologia de Rodriguez-Amaya (2001), com adaptação. Consistiu na pesagem de 2,50 g de amostra, avolumada com solução de isooctano: etanol (3 : 1) em balão volumétrico de 10 mL. A leitura foi realizada em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, no comprimento de onda 450 nm. O conteúdo de carotenoides foi quantificado conforme equação 1.

$$\text{Carotenoides (mg.kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Abs} \times \text{V (mL)} \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times \text{P (g)}} \quad (\text{equação 1})$$

Em que: Abs = absorbância; V = volume da solução (10 mL); $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorção (2500, equivalente ao carotenoide majoritário β-caroteno) e; P = peso da amostra diluído no volume V. Os resultados foram expressos em mg de β-caroteno por kg de amostra.

Conteúdo de Tocoferóis

A determinação de tocoferóis consistiu na pesagem de 150 mg de amostra em balão volumétrico de 5 mL, o qual foi avolumado com isopropanol grau HPLC. Após centrifugação a 9000 g por 6 minutos, uma alíquota de 10 µL do sobrenadante foi injetada em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC) Shimadzu com injetor automático, equipado com detector de fluorescência, utilizando o comprimento de onda de 290 nm para excitação e de 330 nm para emissão. A separação foi efetuada ao fluxo de 1 mL.min⁻¹, utilizando-se sistema de eluição por gradiente, com metanol, acetonitrila e isopropanol como fases móveis, sendo a fase inicial de 40:50:10, respectivamente, alterando-se a proporção aos 10 minutos de corrida, para 65:30:5. Retornou-se à proporção inicial de solventes aos 12 minutos, obtendo-se um tempo total de análise de 15 minutos, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). A identificação dos tocoferóis foi realizada pela comparação entre o tempo de retenção dos respectivos padrões e a quantificação foi efetuada pela relação entre a área do pico de interesse e a curva de calibração, previamente construída, do respectivo padrão (delta, gama e alfa-tocoferol). Os resultados foram expressos em microgramas de tocoferol por grama de amostra.

2.8 Análises estatísticas dos resultados

Os resultados foram tabelados no *software* Excel da *Microsoft Office* 2010 e avaliados estatisticamente segundo a análise de média aritmética e desvio padrão. Para as análises dos dados foi utilizado o *software* *BioEstat* versão 5.0.

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização proximal e de selênio na amêndoa e farinha da Castanha-do-Brasil

Os resultados apresentados na tabela 2.2, apontaram que os macronutrientes conferem a amêndoa $668,44 \pm 0,79$ Kcal.100 g⁻¹ e à farinha $572,30 \pm 7,62$ Kcal.100 g⁻¹; um quantitativo apreciável em calorias, concordando no caso da amêndoa com

os resultados observados por Menezes e Souza (2004), de 676,56 Kcal.100 g⁻¹ e para a farinha, os resultados foram inferiores ao observado por Santos (2011), de 710,60 Kcal.100 g⁻¹. Tanto no caso da amêndoa como da farinha, a maior representação percentual energética foi de lipídios que representaram respectivamente 81,68 % e 73,00 %.

Tabela 2.2 - Composição proximal e conteúdo de selênio na amêndoa e farinha de Castanha-do-Brasil

Nutrientes	Amêndoa			Farinha		
	Valores ¹	Kcal. 100g ⁻¹	% de KCal	Valores ¹	Kcal. 100g ⁻¹	% de KCal
Umidade (g.100g⁻¹)	3,06±0,36			7,37±0,20		
Lipídios (g.100g⁻¹)	60,66±0,61	546,00	81,68	46,40±1,34	417,60	73,00
Carboidratos²(g.100g⁻¹)	16,61±0,79	66,44	9,94	21,77±1,89	87,10	15,19
Proteínas³(g.100g⁻¹)	14,00±0,20	56,00	8,38	16,90±0,73	67,60	11,81
Cinzas (g.100g⁻¹)	3,31±0,20			5,05±0,02		
Fibras (g.100g⁻¹)	2,31±0,20			2,66±0,03		
Valor calórico (Kcal.100g⁻¹)	668,44±0,79			572,30±7,62		
Selênio (µg.g⁻¹)	43,5±0,70			41,5±1,10		
Peso médio da Amêndoa⁴ (g)	5,72 ±0,64					
Selênio (µg)	248,82			237,38		
(1 unidade =5,72g)						

¹Os valores correspondem à média de três repetições com estimativa de desvio padrão (n = 3). ²Teor de Carboidratos calculados por diferença. ³Proteína (N x 5,46). ⁴Média de 50 unidades analisadas.

A presença majoritária de lipídios (46,40 ± 1,34 g.100 g⁻¹) e valor calórico total (572,30 ± 7,62 Kcal.100 g⁻¹) na farinha oriunda de Laranjal do Jari, Amapá, apresentado neste estudo, diferiu dos resultados observados por Santos (2012), que identificou 38,54 ± 0,81 g.100 g⁻¹ de proteína; 31,68 ± 0,27 g.100 g⁻¹ de lipídios; 9,93 g ± 0,46g.100 g⁻¹ de carboidratos e 479,00 Kcal.100g⁻¹ na farinha de Belém do Pará. No estudo de Santos (2012), o aporte calórico por parte dos lipídios foi de 59,52%, enquanto no estudo realizado por Medeiros *et al.*(2010), com matéria-prima do Acre,

foi de 54,42 %, já Ferreira *et al.* (2006) encontrou 38,83 % para a fração lipídica na farinha proveniente do estado do Amapá.

Na composição da amêndoa, os resultados referentes aos macronutrientes e valor energético, apresentaram similaridade com os observados por Ferreira *et al.* (2006), que encontraram 61 g.100 g⁻¹ de lipídios; 15,60 g.100 g⁻¹ de proteínas; 17,12 g.100 g⁻¹ de carboidratos e valor energético de 668,20 Kcal.100 g⁻¹, demonstrando que os lipídios contribuíram com 82,16 % de aporte energético, similar ao observado neste trabalho.

Observou-se o peso médio da amêndoa de 5,72 ± 0,64 g. Diante dos resultados pode-se afirmar que a amêndoa e a farinha de Castanha-do-Brasil provenientes do Amapá, são alimentos altamente energéticos, e que uma unidade da amêndoa, fornece cerca de 38,20 Kcal.100 g⁻¹ e, ao consumir-se o equivalente a uma amêndoa em farinha (média de 5,72 g), tem-se um ganho energético de 32,73 Kcal.100 g⁻¹. Portanto, a utilização destes produtos na alimentação humana, além de outros benefícios, contribui fortemente para o aporte energético. Quando comparada a quantidade calórica da amêndoa em estudo, com o quantitativo observado na Castanha de caju crua (CÂMARA, 2010), obedecendo a mesma proporcionalidade em peso (5,72 g), verifica-se que o quantitativo calórico é de 33,67 Kcal.100 g⁻¹, ou seja, o mesmo peso de Castanha-do-Brasil proporciona um maior aporte energético, de 11,86 % a mais do que na Castanha de caju crua.

Em relação as fibras, observa-se que tanto para a amêndoa (2,31 ± 0,20 g.100 g⁻¹) como para a farinha (2,66 ± 0,03 g.100 g⁻¹) os resultados foram inferiores aos apresentados na literatura. Foram relatados peso médio da amêndoa de 8,02 g.100 g⁻¹ para as provenientes do estado do Acre (MENEZES e SOUZA, 2004), de 7,79 g.100 g⁻¹ para as oriundas do estado do Amapá (FERREIRA *et al.*, 2006), e de 7,90 g.100 g⁻¹ para obtidas na Central de Abastecimento Geral de São Paulo - CEAGESP (TACO, 2011). Para farinha, as fibras representaram 12,05 g.100 g⁻¹, para as oriundas de Belém do Pará (CHOEN, 2006), 5,50 g.100 g⁻¹, para as originárias do estado do Acre (MEDEIROS *et al.*, 2010), e de 8,85 g.100 g⁻¹ para farinhas oriundas de Belém do Pará (SANTOS, 2012). Conforme Menezes e Souza (2004) a castanha é rica em fibras, com predomínio das insolúveis e a ingestão deste tipo de fibra, de acordo com Mahan e Escott-Stump (2010), está associado ao aumento do bolo fecal e à prevenção de problemas entéricos, o que valoriza ainda mais a utilização deste alimento.

As cinzas, que refletem o material mineral presente na amostra, na amêndoa seu conteúdo foi de $3,31 \pm 0,20 \text{ g.100 g}^{-1}$, valores similares aos encontrados por Menezes e Souza (2004) e Ferreira *et al.* (2006). Na farinha, a exemplo de outros estudos o quantitativo também foi maior que na amêndoa, representado por $5,05 \pm 0,02 \text{ g.100 g}^{-1}$, valores superiores ao encontrados por Medeiros *et al.* (2010), de $2,10 \text{ g.100 g}^{-1}$ e inferior ao relato por Ferreira *et al.* (2006), de $6,06 \text{ g.100 g}^{-1}$ e por Menezes e Souza (2004), de $8,85 \text{ g.100 g}^{-1}$. É importante considerar que há variações do teor minerais na Castanha-do-Brasil, conforme estabelecido por Macrae, Robinson e Dadler (1993), isto ocorre em função da localização das castanheiras e das condições edafoclimáticas das microrregiões produtoras (FELBERG *et al.*, 2009).

Quanto ao quantitativo de selênio, de acordo com Santos (2012), uma única amêndoa pode fornecer $120 \mu\text{g}$ deste mineral, sendo que a ingestão diária para homens e mulheres deve ficar em torno de $55 \mu\text{g}$ (AMAYA-FARFAN, DOMENE e PADOVANI, 2001). No presente estudo, uma castanha (média de $5,72 \text{ g}$) apresentou $248,82 \mu\text{g}$ de selênio, um pouco inferior ao constatado por Cominetti (2010), que foi de $290,5 \mu\text{g}$. Os resultados encontrados demonstraram que seriam necessários o consumo de apenas duas castanhas, ou o correspondente em farinha, para atingir o valor do Limite Superior Tolerável de Ingestão (UL) de selênio de $400 \mu\text{g/dia}$, que foi fixado devido ao risco de desenvolvimento de selenose (WHANGER, 2004). Portanto, o consumo adequado da amêndoa ou farinha de Castanha-do-Brasil, em função do quantitativo de selênio poderá proporcionar ação antioxidante (FEWTRELL *et al.*, 1999), melhora da concentração de selênio no sangue e do perfil lipídico, especialmente o da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL-C), reduzindo assim os riscos cardiovasculares (COMINETTI *et al.*, 2012).

3.2 Ácidos graxos do óleo de Castanha-do-Brasil

No presente estudo, o óleo de Castanha-do-Brasil, conforme apresentado na tabela 2.3, apresentou $24,85 \%$ de ácidos graxos saturados, com maior concentração de ácidos graxos palmítico, $15,17 \%$ e esteárico, $9,30 \%$. Estes resultados estão de acordo com os observados por Venkatachalam e Sathe (2006), que em estudo realizado com óleo extraído de amostras provenientes de

supermercados da Califórnia - Estados Unidos encontraram respectivamente 15,11 % e 9,51 % destes ácidos graxos; e com Robbins *et al.* (2011), que encontraram respectivamente 14,71 % e 9,79 %, no óleo extraído de amostras adquiridas na cidade de Kansas - Estados Unidos.

Tabela 2.3 - Composição de ácidos graxos no óleo de Castanha-do-Brasil

Componentes		% relativo*
	C14:0 (mirístico)	0,08
	C16:0 (palmítico)	15,17
	C16:1 (palmitoleico)	0,35
	C17:0 (margárico)	0,07
Ácidos	C18:0 (esteárico)	9,30
Graxos (%)	C18:1 (oléico)	29,83
	C18:2 (linoléico)	42,36
	C20:0 (araquídico)	0,23
	C24:1 (nervônico)	2,60
Total	Saturados	24,85
	Insaturados	75,15

* Média de 3 repetições

Quanto aos ácidos graxos insaturados, o óleo de Castanha-do-Brasil contém majoritariamente ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados, com 75,15 % de ácidos graxos insaturados, sendo 29,83 % de ácido oléico (w9) e de 42,36 % de ácido linoléico (w6). Os quantitativos desses ácidos graxos demonstraram similaridade com os identificados por Santos (2012) e Poeta (2009). Em função de sua qualidade, de acordo com Gutierrez, Regitano-D`arce e Rauen-Miguel (1997), o óleo de Castanha-do-Brasil é reconhecido como um óleo fino de mesa.

A presença de ácidos graxos polinsaturados na alimentação, promovem a diminuição de lipoproteínas de baixa densidade (MENSINK *et al.*, 1992), e os ácidos graxos monoinsaturados são responsáveis pela conservação de lipoproteínas de alta densidade (DE BRUIN *et al.*, 1991). Assim a identificação destes ácidos graxos

no presente estudo, evidencia a qualidade funcional do óleo de Castanha-do-Brasil, que pode ter um papel fundamental na prevenção de dislipidemias.

3.3 Parâmetros de identidade e qualidade do óleo da Castanha-do-Brasil

Os resultados que constam na tabela 2.4 referem-se à alguns índices de identidade e de qualidade do óleo extraído da Castanha-do-Brasil. A acidez fornece o quanto os triacilgliceróis foram hidrolisados, ou seja, formação de ácidos graxos livres. Naturalmente, os lipídeos presentes na amêndoa estão esterificados em alto grau, mas durante a extração e estocagem do óleo, a hidrólise pode ocorrer em função do aquecimento, ação da luz ou pela ação enzimática, que poderá induzir o desenvolvimento de rancidez (MORETTO e FETT, 1998).

O índice de acidez observado foi de $0,32 \pm 0,02$ mg KOH.g⁻¹, superior ao encontrado por Vasconcelos *et al.* (2011), que foi de 0,13 mg KOH.g⁻¹. No entanto, o valor encontrado se enquadra dentro dos níveis aceitáveis para óleos extraídos a frio por prensagem e não submetidos à refinação, que deve ser de no máximo é 4,0 mg KOH.g⁻¹ de óleo, segundo a ANVISA (2005).

O índice de peróxidos leva em consideração a presença de peróxidos formados a partir da oxidação de ácidos graxos. No trabalho de Santos (2012), com extração por prensagem a frio, o valor de índice de peróxido encontrado no óleo foi de 4,06 mEq.kg⁻¹, inferior ao encontrado no presente estudo, que foi de $6,43 \pm 0,03$ mEq.kg⁻¹, demonstrando assim uma maior quantidade de substâncias oriundas do processo oxidativo no óleo. Porém, este valor foi inferior ao observado por Souza (2013), que foi de 8,94 mEq.g⁻¹, para óleo de Castanha-do-Brasil despelculada. No entanto, o valor encontrado no presente estudo está dentro dos parâmetros estabelecidos pela ANVISA para óleos obtidos por prensagem a frio e não refinados, com valor máximo de 15,00 mEq.g⁻¹ (ANVISA, 2005).

O índice de saponificação indica o quantitativo de base (KOH) necessária para saponificar os ácidos graxos livres. Quanto menor o peso molecular do ácido graxo, maior o índice de saponificação, ou seja, quanto maior este índice maior a probabilidade de utilização deste óleo ou gordura na alimentação humana. O valor encontrado no presente estudo foi de $196,61 \pm 0,55$ mg KOH.g⁻¹, similar ao observado por Ferreira *et al.* (2006), de 198,58 mg KOH.g⁻¹ e superior ao encontrado por Santos (2012), que foi de 181,53 e 187,20 mg KOH.g⁻¹, sendo que nos dois

estudos o óleo foi obtido por prensagem hidráulica. O índice de saponificação do óleo no presente estudo está próximo do limite superior estabelecido pelo Codex Alimentarius, que é de 196,00 mg KOH.g⁻¹ (CODEX, 2009).

O índice de refração de uma gordura aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos. O índice de refração do óleo da Castanha-do-Brasil foi de 1,46, igual ao observado por Ferreira *et al.* (2006) e Santos (2012), estando de acordo com os níveis estabelecidos pelo Codex Alimentarius, de 1,46-1,47 (CODEX, 2009). A densidade do óleo foi de 0,91, resultado também coincidente com o apresentado por Ferreira *et al.* (2006) e Santos (2012).

Tabela 2.4 - Caracterização físico-química da Castanha-do-Brasil

Variáveis	Valor*
Índice de Acidez (mg KOH.g ⁻¹)	0,32 ± 0,02
Índice de Peróxidos (mEq.Kg ⁻¹)	6,43 ± 0,03
Índice de Saponificação (mg KOH.g ⁻¹)	196,61 ± 0,55
Índice de Refração	1,46 ± 0,00
Densidade (g.mL ⁻¹)	0,91 ± 0,00

*Média de três repetições com estimativa de desvio padrão (n = 3).

3.4 Compostos bioativos do óleo da Castanha-do-Brasil

Os tocoferóis são biossintetizados por plantas (DELLAPENNA e POGSON 2006) e acumulam-se no óleo vegetal comestível devido sua elevada hidrofobicidade e, portanto, alta afinidade com os lipídios (SATTLER *et al.* 2004). O quantitativo de tocoferóis presentes no óleo de castanha (Tabela 2.5), foi de 193,60 ± 4,41 µg.g⁻¹, o que está em concordância com os achados de Funasaki *et al.* (2013), que em estudo realizado em diferentes regiões da amazônia encontraram resultado médio de 192,02 ± 33,54 µg.g⁻¹ no óleo Castanha-do-Brasil. Os tocoferóis majoritários foram o α e γ tocoferol, com conteúdos de respectivamente 52,24 ± 0,85 µg.g⁻¹ e de 141,37 ± 3,56 µg.g⁻¹. Estes teores estão em concordância com os achados de Robbins *et al.* (2011), que foram respectivamente de 54,40 µg.g⁻¹ e de 146,30 µg.g⁻¹.

Yang (2009) relata conteúdos inferiores aos encontrados no presente estudo, que foram respectivamente de $82,90 \mu\text{g.g}^{-1}$ e de $116,2 \mu\text{g.g}^{-1}$.

No estudo de Lima e Gonçalves (1997), com óleo de milho, soja, Castanha-do-Brasil (óleo comercial) e Castanha de Caju (óleo extraído a frio), os tocoferóis totais determinados por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (diluição em hexano) foram de respectivamente, $581,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, $830,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, $182,00 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $64,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, desta forma observa-se que o óleo de Castanha-do-Brasil oriundo de Laranjal de Jari, apresentou teores acima do observado pelos autores para o óleo de Castanha de Caju e Castanha-do-Brasil. No que se refere ao α tocoferol os valores foram de respectivamente $169,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, $134,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, $25,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, $6,00 \mu\text{g.g}^{-1}$, mais uma vez os teores observados neste trabalho, foram superiores aos encontrados pelo autor para o o óleo de Castanha de Caju e Castanha-do-Brasil. Pelos resultados observados reafirma-se a potencialidade do óleo da Castanha-do-Brasil oriunda de Laranjal do Jari.

Tabela 2.5 - Compostos bioativos no óleo da Castanha-do-Brasil

Componentes	Valor relativo*
Tocoferóis Totais ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	$193,60 \pm 4,41$
α Tocoferóis ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	$52,24 \pm 0,85$
γ Tocoferóis ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	$141,37 \pm 3,56$
Compostos Fenólicos (mg GAE.100g ⁻¹)	$189,0 \pm 1,46$
Carotenóides (mg de β -caroteno .Kg ⁻¹)	$35,67 \pm 1,30$

* Média de 3 repetições

O teor de compostos fenólicos totais, foi de $189,0 \pm 1,46 \text{ mg GAE.100 g}^{-1}$, valor superior ao encontrado por Abe, Lajolo e Genovese (2010), que foi de $106,0 \pm 7,0 \text{ mg GAE.100 g}^{-1}$. Segundo Alasalvar e Shahidi (2009) citado por Costa-Singh, Bitencourt e Jorge (2012) , em óleos de Castanhas-do-Brasil, Castanha de Caju e Macadâmia, a concentração de compostos fenólicos totais foi $310,00 \text{ mg GAE.100g}^{-1}$; $274,00 \text{ mg GAE.100g}^{-1}$ e $156,00 \text{ mg GAE.100g}^{-1}$, respectivamente. O teor observado neste estudo reafirma a representatividade deste constituinte na castanha, o que de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), faz com que este alimento seja reconhecido pelo seu poder antioxidante.

Os carotenóides, expressos em β -caroteno, apresentaram valor de $35,67 \pm 1,30 \text{ mg.Kg}^{-1}$, inferior ao observado por Miraliakbari e Shahidi (2008), que encontrou $62,5 \pm 1,1 \text{ mg.Kg}^{-1}$, em óleo de castanha extraído com clorofórmio-metanol. Segundo estudos de Agarwal e Rao (2000), a ingestão de alimentos ricos em carotenóides pode prevenir a oxidação da LDL-C e o desenvolvimento de doenças degenerativas (SILVA *et al.*, 2010).

4.0 CONCLUSÃO

A amêndoa e a farinha de Castanha-do-Brasil oriundas da cidade de Laranjal do Jari, Amapá, apresentaram quantidade expressiva de macronutrientes, com predominância da fração lipídica, conferindo a estes produtos alimentícios alto valor energético. A quantidade de selênio-equivalente tanto na amêndoa quanto na farinha demonstrou-se muito expressiva.

O óleo de Castanha-do-Brasil apresentou teores superiores em ácidos graxos insaturados, com predominância do ácido linoléico. O óleo apresentou também, quantidades apreciáveis de antioxidantes naturais, como α , γ tocoferóis, tocoferóis totais, compostos fenólicos e carotenóides totais.

Os resultados indicaram que os produtos da Castanha-do-Brasil constituem fonte importante de suplementação alimentar, podendo ser utilizados como alimento nutracêutico em função da presença expressiva de nutrientes funcionais, a exemplo dos ácidos graxos insaturados, polinsaturados e de antioxidantes naturais, assim como fonte expressiva de selênio.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M. I. Comparison idant capacity of nuts. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas,. v.30, supl.1, p. 254-259, mai., 2010.
- AGARWAL S, RAO AV. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal**. v.163, n.6, p.739-44, 2000.
- AGENDA 21 Brasileira. Disponível em: <<http://www.ensp.fiocruz.br/publi/radis/>. tema 18.html. 25. mai.2000. In: MIKI, P. S. R. **Um debate sobre a Agenda 21 Brasileira: em defesa da floresta amazônica**. Somanlu, ano 4, n. 1, jan./jun. 2004.
- ALASALVAR C, SHAHIDI F. Natural antioxidants in tree nuts. **Eur J Lipid Sci Technol**. v.111, n.11, p.1056-62, 2009. In: COSTA-SINGH, T.; BITENCOURT, T. B.; JORGE, N.Caracterização e compostos bioativos do óleo da castanha-de-cutia (*Couepia edulis*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v.71, n.1, p.61-8, 2012.
- AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S.M.A.; PADOVANI, R.M. DRI: Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.14, n.1, p.71-78, 2001. .
- AMERICAN OIL CHEMISTIS SOCIETY - AOCS.**Official Methods and Recommended Pratices**. Champaign, 2004.
- ANGELUCCI, E.; MANTOVANI, D.M.B. **Minerais em Alimentos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1986, 131p.
- ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. **Diário Oficial da União**, 26 dez., 2003.
- ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Brasília, **Diário Oficial da União**, 23 set., 2005.
- AOAC INTERNATIONAL. *Official methods of analysis*. 16^a ed., 3^a rev. Gaitherburg: **Published by AOAC International**. v.2, cap. 32, p.1-43, 1997.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOCS). Official and tentative methods of the American Oil Chemist`s Society. **American Oil Chemists Society Press**, 3 ed., Chicago, USA, 1998.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995. In: SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul.-set. 2010.

CÂMARA, C.R. **Indicadores de qualidade de amêndoa de castanha de caju em pedaços durante o processo industrial**. 2010 116f. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

CHOEN, K. O.; CHISTÉ, R. C.; MATHISAS, E. A. Elaboração de farinha de mandioca adicionada de farinha de Castanha-do-Brasil. **Comunicado Técnico**. Belém, PA, dez, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. *Codex Standards for olive oils, and olive pomace oils*, **CODEX Stan 33**, 1981. Rome: FAO/WHO, 2003. (Revisão 2009).

COMINETTI, C. **Efeitos da suplementação com Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) sobre o estresse oxidativo em mulheres obesas e sua relação com o polimorfismo Pro198Leu no gene glutathione peroxidase 1**. 2010. 100f. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos. Área de Nutrição Experimental. São Paulo. 2010.

COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C.; GARRIDO, A. B.; COZZOLINO, S. M. F. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. **Nutrition Research**. v. 32, n.6, p. 403-407, Jun.,2012.

DE BRUIN, T.W.; BROUWER, C.B.; GIMPEL, J.A.; ERKELENS, D.W. Postprandial decrease in HDL cholesterol and HDL apo A-I in normal subjects in relation to triglyceride metabolism. **American Journal Physiology**, v. 260, n. 3, p. E492-E498, 1 mar. 1991.

DELLAPENNA, D.; POGSON, B.J. Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids. **Annual Review of Plant Biology**. v.57, p.711-738, 2006.

EMBRAPA. Informação **Tecnológica: Benefícios e Estratégias de Utilização Sustentável da Amazônia**. Brasília, 2003.

FELBERG, I; ANTONIASSI, R.; DELIZA, R.; FREITAS, S. C.; MODESTA, R. C. D. Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.29, n.3, p. 609-617, jul.-set. 2009.

FERREIRA E. S., SILVEIRA, C.S.; LUCIEN, V.G.; AMARAL, A.S. Caracterização Físico Química da Amêndoa, Torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto de Castanha-do- Brasil (*bertholletia excelsa* H.B.K.) **Alim. Nutr.** Araraquara. V.17, n.2, p.203-208, abr.-jun.2006.

FEWTRELL, M. S.; PRENTICE, A.; *et al.* Bone mineralization and turnover in preterm infants 8-12 years of age: the effect of early diet. **J Bone Miner Res**. v.14, p.810-20, 1999.

FUNASAKI, M.; MENEZES, I. S.; BARROSO, H. S.; ZANOTTO, S.P.; CARIOCA, C. R. F. Tocopherol profile of Brazil nut oil from different geographic areas of the Amazon region. **Acta Amazonica**. Manaus, v.43, n.4, Dez., 2013.

GAMBACORTA, G., FACCIA, M., PREVITALI, M.A., PATI, S., NOTTE, E.L., BAIANO, A. Effects of olive maturation and stoning on quality indices and antioxidant content of extra virgin oils (cv. Coratina) during storage, *Journal of Food Science*, v. 75, n. 3, p. C229-C235, 2010.

GUTIERREZ, E. M. R.; REGITANO-D ARCE, M. A. B.; RAUEN-MIGUEL, A. M. O. Estabilidade oxidativa do óleo bruto da castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*). **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 22-27, 1997. In: FREITAS, S.; FREITAS-SILVA, O.; MIRANDA, I.C.; COELHO, M.A.Z. Extração e fracionamento simultâneo do óleo da castanha-do-Brasil com etanol. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v.27, supl., p.14-17, ago. 2007.

HARTMAN, L., and R. LAGO, Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, **Lab. Pract.**, v.22, p.475-476, 1973.

LIMA, J. R.; GONÇALVES, L. A. Quantificação de tocoferóis em óleos de milho, soja, castanha-do-pará e castanha de caju por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. **Alim. Nutr.** São Paulo. V.8, p.65-73, 1997.

MACRAE; R.; ROBINSON, R.K.; DADLER, M. Brazil nuts. In: MACRAE; R.; ROBINSON, R.K.; DADLER, M. **Encyclopaedia of food science food technology and nutrition**. London: Academic Press, v.1, p.458-461, 1993. In: FELBERG, I; DELIZA, R.; GONÇALVES, E.B.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. C.; CABRAL, L.C.. Bebida Mista de Extrato de Soja Integral e Castanha-Do-Brasil: Caracterização Físico-Química, Nutricional e Aceitabilidade do Consumidor. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 163-174, 2004.

MAHAN L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause, Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 12.ed. Rio de Janeiro. Elsevier, p.674-677, 689-697, 2010.

MAIA, E. L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce**. 1992. 130f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 1992.

MEDEIROS, M. J.; OLIVEIRA, P. A. A. C.; SOUZA, J. M. L.; SILVA, R. F.; SOUZA, M. L. Composição química de misturas de farinhas de banana verde com castanha-do-brasil. **Ver. Inst Adolfo Lutz**. v.69, n.3, p.396-402, 2010.

MENEZES, H.C.; SOUZA, M. L. Processamentos de amêndoa e torta de Castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 120-128, jan.-mar. 2004.

MENSINK, R. P.; KATAN, M. B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 27 trials. **Arterioscler. Tromb.** v.12, p. 911-919, 1992.

MIRALIAKBARI, H.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. **Food Chemistry**. v.111,p. 421–427, 2008.

MONTEDORO, G.; SERVILI, M.; BALDIOLI, M; MINIATI, E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. Their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. **J. Agric. Food Chem.** v.40, p.1571-1576, 1992.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos**, São Paulo: Varela, 1998. 150 p.

MULLHER, C. H; FIGUEIREO, F. J. C.; CARVALHO, J. E. U. **Características comparativas entre frutos e sementes de Castanha-do-Brasil**. Belém. EMBRAPA-CPATU, 1995.

POETA, P.T. **Influência da Adição de tosta de castanha-do-Brasil à dieta AIN-93G sobre o crescimento e composição corpórea de ratos Wistar: características nutricionais da torta desengordurada de castanha-do-Brasil**. 2009. 82f. Dissertação (Mestrado). Universidade estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Departamento de Alimentos e Nutrição. Campinas- SP. 2009.

PROGRAMA PILOTO DE PROTEÇÃO DAS FLORESTAS TROPICAIS DO BRASIL PGG-7. Reunião dos participantes. Relatório de Atividades. Brasília: MMA/SCA. Julho.mimeo. 1997. In: MIKI, P. S. R. **Um debate sobre a Agenda 21 Brasileira: em defesa da floresta amazônica**. Somanlu, ano 4, n. 1, jan./jun. 2004.

ROBBINS, K. S.; SHIN, E.; SHEWFELT, R. L.; EITENMILLER, R.R.; PEGG, R. B. Update on the Healthful Lipid Constituents of Commercially Important Tree Nuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.23, n.59, p.12083-12092, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. **Washington DC: ILSI Press**, 2001.

SANTOS, O.V. **Estudo das potencialidades da castanha-do-brasil: produtos e subprodutos**. 2012. 214f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 2012.

SATTler, S.E.; GILLILANDA, L.U.; MAGALLANES-LUNDBACKA, M.; POLLARDB, M.; DELLAPENNAA, D. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. **The Plant Cell**. V.16, p 1419–1432, 2004.

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R.; SOUZA, J. M. L. Influência do processo de beneficiamento na qualidade de amêndoas de Castanha-do-Brasil. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 445-450, mar.-abr., 2010.

SOUZA, J. M. L. **Caracterização e efeitos do armazenamento de amêndoas com películas e despelculadas sobre propriedades das frações proteica e lipídica de castanha-do-Brasil**. 2013. 146f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

SOUZA, M. L.; MENEZES, H. C. **Processamento de amêndoa e torta de castanha-do-brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade.** Ciência e tecnologia de alimentos, v.24,n.1, p.120-128, 2004.

TACO - **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA.** Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP NEPA-UNICAMP. 4 ed. 2011.156p.

VASCONCELOS, A. A.; CRUZ, K.; WADT, L.O.; ABREU, L.F. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AMÊNDOAS E ÓLEOS DE CASTANHA DO BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K) PROVENIENTES DO ESTADO DO ACRE. **15º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA 24 e 25 de agosto de 2011.** Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. 2011.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S. K. Chemical composition of selected edible nut seeds. **J Agric Food Chem** v.54, p.4705-4714, 2006. In: ZAJDENWERG, C.; BRANCO, G. F.; ALAMED, J.;DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Correlation between sensory and chemical markers in the evaluation of Brazil nut oxidative shelf-life. **Eur Food Res Technol.** v.233, p.109-116, 2011.

VILLACHICA, H. **Frutales y hortalizas promisorias de la Amazonía.** Lima-Perú, nº 44. **SPT-TCA**, 1996.

WHANGER, P. D. Selenium and its relationship to cancer: an update. **British Journal of Nutrition, Cambridge**, v. 91, n. 1, p. 11-28, 2004. In: FREITAS, S. C.; GONÇALVES, E. B.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, S. P. Meta-análise do teor de selênio em castanha-do-brasil Braz. **J. Food Technol.**, v. 11, n. 1, p. 54-62, jan.-mar., 2008.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **Food Science and Technology**. v.42, p.1573–1580, 2009.

ZAMBLIAZI, R.C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability.** 1997. 304f. Tese. Foods and Nutritional Sciences Interdepartamental Program - University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.1997.

CAPÍTULO III - AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE PRODUTOS DA CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excels* H.B.K.)

1.0 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares altamente prevalentes no mundo, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), configuram-se como principal causa de morte, representando 30% das mortes globais (BUTTLER, 2011), a exemplo do Brasil que apresenta o mesmo percentual (SIMÃO *et al.*, 2013). Deste percentual, 80% das mortes ocorrem em países com baixa e média renda Santos *et al.* (2013).

Estas doenças têm como base a aterosclerose que se dão em função da combinação de uma série de fatores, como disfunção do metabolismo de lipoproteínas, estresse oxidativo, inflamação crônica e suscetibilidade a trombose (HANSSON, 2005). Hábitos alimentares, hipercolesterolemia, obesidade, diabetes, hipertensão, estresse, constituem também fatores de risco que predispõem ao desenvolvimento de doenças vasculares.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a mudança de estilo de vida, pode levar a diminuição de $\frac{3}{4}$ da mortalidade associada a doenças cardiovasculares (SIMÃO *et al.*, 2013). No entanto, no Brasil a exemplo de outros países em desenvolvimento, culturalmente há um maior consumo de alimentos de origem animal, utilizados principalmente como fontes de proteínas; porém estudos têm apresentado resultados que identificam os produtos de origem vegetal como excelentes fontes de macro e micronutrientes.

Dentro desta perspectiva apresenta-se a Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), em função de seu alto potencial nutritivo. No entanto a castanha é pouco utilizada no Brasil como ingrediente na elaboração de alimentos e no consumo *in natura*, sendo que cerca de 90 % de sua produção é exportada para outros países Menezes e Souza (2008).

Com base em sua constituição observa-se que esta oleaginosa possui um elevado valor energético e constitui uma ótima base protéica (CAMARGO, 1986; MENEZES e SOUZA, 2004), apresentando micro constituintes

indispensáveis à nutrição humana (SOUZA *et al.* 2009).

Na porção proteica, uma de suas principais características é a presença da excelsina, fração da albumina, reconhecida como proteína completa em alimentos de origem vegetal, o que leva a Castanha-do-Brasil a ser popularmente denominada de carne vegetal (CASTRO *apud* MENEZES e SOUZA, 2004).

A amêndoa desta castanha apresenta alto conteúdo de selênio, que juntamente com o elevado conteúdo de ácidos graxos insaturados (86,2%), com 34,7 % de ácido linoléico (FERREIRA, 2005), faz com que seja reconhecida como um alimento funcional (SGARBIERI, 1996; IÑARRITU e FRANCO, 2001). Ainda contém β -tocoferol e β -sitosterol, que junto com os demais constituintes, conferem à castanha-do-Brasil propriedades antioxidantes e de prevenção do colesterol (CHUNHIENG *et al.*, 2008).

O reconhecimento das propriedades da Castanha-do-Brasil a qualificam como um alimento funcional, desta forma o presente estudo visa investigar o efeito biológico em ratos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus Norvegicus*) de dietas formuladas com os produtos da Castanha-do-Brasil oriundos da cidade de Laranjal do Jarí, estado do Amapá.

2.0 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Infraestrutura

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas-UFPeL, Pelotas/RS. O ensaio biológico foi conduzido no Laboratório de Ensaios Biológicos da Faculdade de Nutrição-UFPeL, na cidade de Pelotas/RS. As análises histológicas no Laboratório de Histoquímica da Faculdade de Veterinária - UFPeL, Pelotas/RS. A determinação de selênio no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais da Fundação Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande/RS. As análises bioquímicas do sangue no Laboratório de Bioquímica do Curso de Farmácia da Universidade Católica de Pelotas - UCPeL, Pelotas/RS.

2.2 Matéria-prima

As matérias-primas utilizadas foram amêndoa, farinha e óleo de Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), provenientes do município de Laranjal do Jarí - AP, produzidas no período de dezembro 2010 à junho de 2011, e doadas pela Cooperativa Mista dos Produtores Agroextrativistas da Reserva do Rio Jarí - COMAJA, Município do Laranjal do Jarí no Estado do Amapá.

As amostras de amêndoa, cerca de 10 kg, foram acondicionadas em embalagens transparentes de polietileno, e armazenadas a -18°C até o momento das análises.

O óleo foi obtido na cooperativa através de processo físico de extração a frio das amêndoas por prensagem semicontínua em prensa hidráulica, a 25°C . O óleo foi acondicionado em recipientes de vidro âmbar, 5 recipientes com cerca 400 mL cada, e armazenado sob congelamento (-18°C) até o momento das análises.

As amostras de farinha, (cerca de 10 kg) foram obtidas a partir da massa resultante da extração, por prensagem das amêndoas de castanhas. A massa

resultante da extração do óleo foi submetida à secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 60⁰C, até atingir umidade em torno de 3 %. Após as amostras foram embaladas em sacos metalizados apropriados (capacidade para 1kg), impermeáveis ao ar e à umidade, e selados em máquina com aplicação de vácuo. As amostras foram congeladas (-18⁰C) até o momento das análises.

Os demais ingredientes utilizados foram: banha de suína da marca Sadia[®], Caseína pura (Synth), Amido de milho (Comercial), Óleo de soja (Comercial), Fibra - celulose microcristalina (Microcel[®]), Tetra-butilhidroquinona (Sigma[®]), L-Cistina (Sigma[®]), Bitartarato de colina (Sigma[®]), Mix mineral e Mix vitamínico (Farmácia de manipulação).

2.3 Ensaio biológico

A pesquisa seguiu as normas estabelecidas pelos Princípios Internacionais Orientadores para Pesquisa Biomédica envolvendo Animais, sendo previamente aprovada pela Comissão de Ética em Pesquisa da UFPel, sob o número de cadastro 50701081/2011 (Anexo).

Para o desenvolvimento do experimento foram utilizados como modelo biológico, 60 ratos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*), desmamados aos 21 dias, com peso médio de 92,42 ± 18,29 gramas, provenientes do Biotério de Criação da Universidade Federal de Pelotas - UFPel.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ensaio Biológicos da Faculdade de Nutrição da UFPel. O ensaio biológico teve a duração de 74 dias, sendo 4 dias de adaptação, nos quais os animais receberam a dieta usual do Biotério Central da UFPel e as outras dietas, nos 70 dias de tratamento.

Os animais foram distribuídos em blocos casualizados e mantidos em gaiolas metabólicas individuais, com as seguintes características: medidas 27 cm x 19 cm x 20 cm, produzida em arame de aço inox Aisi 304 com polimento eletrostático, com pés de 35 cm de altura, comedouro tipo túnel e bebedouro de polipropileno com capacidade de 300 mL, rolha de borracha antiácida e bico de aço inoxidável curvo, com funil para recepção das fezes e becker para

coleta de urina (Modelo MA 122- Marca Beiramar).

As dietas e a água foram fornecidas *ad libitum*, em ambiente controlado, com ciclo de claro/escuro de 12 horas e temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 50 - 60 %.

O experimento foi dividido em duas etapas e as dietas ofertadas, elaboradas conforme a AIN-93 (REEVES, NIELSEN e FAHEY JR. 1993). Na primeira etapa, durante 35 dias, os animais foram alocados em cinco grupos (Figura 3.1). Três grupos receberam dietas experimentais normocalóricas com produtos da Castanha-do-Brasil: (I) Farinha, (II) Amêndoa (ambas com 7 % de gordura intrínseca) e (III) Óleo comercial de Castanha-do-Brasil (7 % de óleo de castanha). (IV) Dieta Hipercalórica com base lipídica de gordura suína (15 % de gordura) e (V) dieta Controle AIN-93 G. No término do período experimental, 6 animais por grupo foram sacrificados.

Na segunda etapa (Figura 3.1), durante mais 35 dias, os animais remanescentes que anteriormente estavam com dieta Hipercalórica, foram realocados em quatro grupos com dietas hipercalóricas: (I) hipercalórica com base lipídica de gordura suína (15 % de gordura), (II) hipercalórica Farinha e (III) hipercalórica Amêndoa (ambas com 8% de gordura suína e 7 % de gordura intrínseca) e (IV) hipercalórica Óleo comercial de Castanha-do-Brasil (8 % de gordura suína e 7 % de óleo de castanha). (V) dieta Controle, dos animais que estavam com esta dieta, seis animais permaneceram com o mesmo tipo de dieta, elaborada conforme a AIN-93M. No final desta etapa, todos os animais por grupo (6 ratos), foram sacrificados.

A pesagem dos animais foi realizada uma vez por semana, em balança com precisão de 0,5 gramas. A ingestão de dieta foi avaliada diariamente, a partir da quantidade ofertada e das sobras computadas. No mesmo intervalo de tempo foi computada também a excreta produzida.

Em ambas as fases, após jejum de 12 horas, os animais foram submetidos à eutanásia por decapitação para retirada de sangue e dos órgãos fígado, rins e coração.

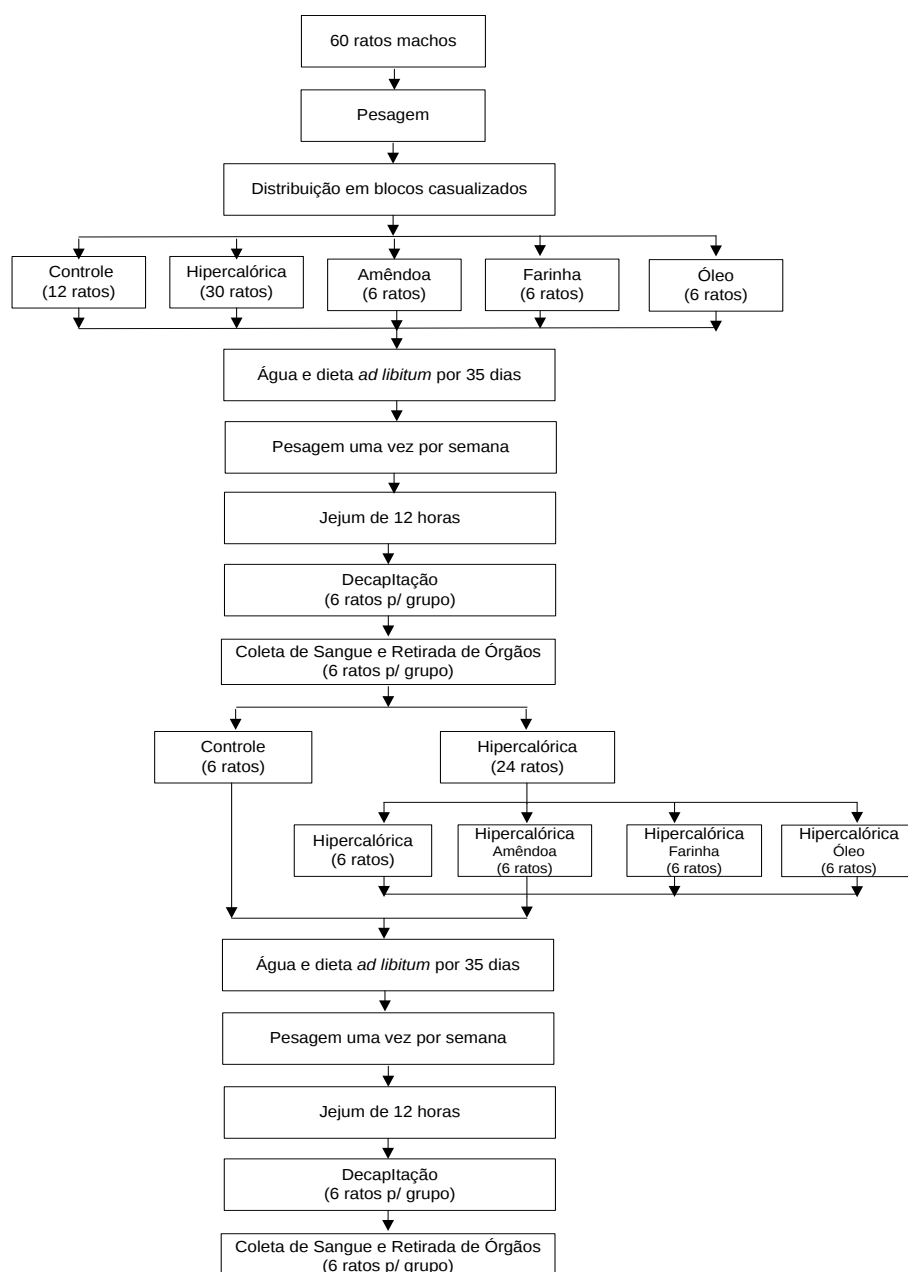


Figura 3.1. Fluxograma operacional do experimento

2.3.1 Dietas

2.3.1.1 Composição proximal da amêndoa, farinha e dietas

As determinações de proteínas, fibras, cinzas, lipídeos e umidade - (A.O.A.C., 1997); carboidratos e valor energético total (ANVISA, 2003), da amêndoa, farinha e dietas foram realizadas em triplicata, conforme descrito no capítulo anterior.

2.3.1.2 Preparo das dietas

As dietas experimentais (Tabela 3.1 a 3.5) foram formuladas segundo as recomendações da American Institute of Nutrition (AIN-93) (REEVES *et al.*, 1993), na primeira fase para ratos em crescimento (AIN-93G) e na segunda fase para manutenção de peso de ratos (AIN-93M).

A mistura mineral utilizada (Tabela 3.6) para as dietas Controle, Hipercalórica e Óleo Comercial de Castanha-do-Brasil (dieta Óleo, na primeira etapa e Hipercalórica Óleo, na segunda etapa) continham selênio. Nas dietas experimentais contendo farinha (dieta Farinha na primeira etapa e dieta Hipercalórica Farinha na segunda etapa) e amêndoa (dieta Amêndoa, na primeira etapa e Hipercalórica Amêndoa, na segunda etapa) o selênio foi intrínseco.

A mistura vitamínica (Tabela 3.7) utilizada na primeira e segunda fase experimentais, tinham a mesma formulação, de acordo com as recomendações estabelecidas por Reeves *et al.*, (1993).

A fonte de fibra foi celulose microcristalina (MICROCEL[®]), que na primeira fase foi adicionada as dietas: Controle, Hipercalórica e Óleo de Castanha-do-Brasil. Na segunda fase nas dietas: Controle, Hipercalórica e Hipercalórica Óleo de Castanha-do-Brasil.

O valor energético das dietas experimentais (Tabela 3.4 e 3.5) foi calculado pelos equivalentes calóricos, por grama, utilizando-se 4,0 Kcal para proteínas e carboidratos e 9,0 Kcal para os lipídeos (ANVISA, 2003).

Tabela 3.1 - Padrão de dietas experimentais para ratos em crescimento (AIN-93G) e manutenção de peso (AIN-93M), conforme Reeves *et al.* (1993), utilizada no ensaio biológico

INGREDIENTES	AIN-93G	AIN-93M
	(lipídio modificado)	
	g,kg ⁻¹	g,kg ⁻¹
Amido de milho	397,486	465,692
Caseína (≥ 85% de proteína)	200,000	140,000
Amido dextrinizado	132,000	155,000
Sacarose	100,000	100,000
Oleo de soja	70,000	70,000
Fibra (celulose)	50,000	50,000
Mistura Mineral (AIN-93M-MX)	35,000	35,000
Mistura Vitamínica (AIN-93VX)	10,000	10,000
L-cistina	3,000	3,000
Bitartarato de colina – 41,1% de colina	2,500	2,500
Tetra-butilidroquinona	0,014	0,008
Dieta (q,s,p,)	1000	1000

Tabela 3.2 - Dietas experimentais da primeira fase (AIN-93G)

Dieta*	Porcentagem (%)			Fonte de Selênio
	Fonte Lipídica	Fonte de Proteína	Fonte de Fibra	
Controle	7,00% Óleo de soja	17,00% de caseína	Celulose (Sigma®)	Mistura Mineral
Hipercalórica	15,00% Banha suína	17,00% de caseína	Celulose (Sigma®)	Mistura Mineral
Óleo Comercial de Castanha-do-Brasil	7,00% de Óleo Comercial de Castanha-do-Brasil	17,00% de caseína	Celulose (Sigma®)	Mistura Mineral
Farinha de Castanha-do-Brasil	7,00% de óleo Intrínseco da farinha	14,40% de caseína 2,60% Intrínseco da farinha	Intrínseca	Intrínseca
Amêndoa de Castanha-do-Brasil	7,00% de óleo Intrínseco da amêndoa	15,40% de caseína 1,60% Intrínseco da amêndoa	Intrínseca	Intrínseca

* O cálculo da representação de lipídeos e proteínas nas dietas experimentais, amêndoa e farinha foi em função dos teores na amêndoa (Proteínas = 14,0% e Lipídeos = 60,66%) e na farinha (Proteínas = 17,32% e Lipídeos = 47,13%). Os demais ingredientes foram iguais para todas as dietas em concordância ao que dispõe a AIN93G (REEVES *et.al.*, 1993).

Tabela 3.3 - Dietas experimentais da segunda fase (AIN-93M)

Dieta*	Porcentagem (%)			Fonte de Selênio
	Fonte Lipídica	Fonte de Proteína	Fonte de Fibra	
Controle	7,00% Óleo de soja	12,00% de caseína	Celulose (Sigma®)	Mistura Mineral
Hipercalórica	15,00% Banha suína	12,00% de caseína	Celulose (Sigma®)	Mistura Mineral
Hipercalórica Óleo Comercial de Castanha-do-Brasil	7,00% Óleo Comercial de Castanha-do-Brasil 8,00% de Banha suína	12,00% de caseína	Celulose (Sigma®)	Mistura Mineral
Hipercalórica Farinha de Castanha-do-Brasil	7,00% de Óleo Intrínseco da farinha 8% de Banha suína	9,33% de caseína 2,67% Intrínseco da farinha	Intrínseca	Intrínseca
Hipercalórica Amêndoa de Castanha-do-Brasil	7,00% de Óleo Intrínseco da amêndoa 8,00% de Banha suína	10,00% de caseína 2,00% Intrínseco da amêndoa	Intrínseca	Intrínseca

* O cálculo da representação de lipídeos e proteínas nas dietas experimentais, amêndoa e farinha foi em função dos teores na amêndoa (Proteínas.= 14,0% e Lipídeos = 60,66%) e na farinha (Proteínas= 17,32% e Lipídeos = 47,13%). Os demais ingredientes foram iguais para todas as dietas em concordância ao que dispõe a AIN93M (REEVES *et.al.*, 1993).

Tabela 3.4 - Formulação de dietas experimentais para ratos em crescimento (AIN-93G), conforme Reeves *et al.* (1993), utilizada no ensaio biológico na primeira fase

INGREDIENTES	Composição (g.Kg ⁻¹)				
	AIN-93G ¹	Hipercalórica ²	Óleo de Castanha-do-Brasil ³	Farinha ⁵	Amêndoa ⁴
Amido de milho (q.s.p)	371,966	291,966	371,966	377,566	398,006
Caseína (≥ 75,38% de proteína)	225,520	225,520	225,520	191,400	204,080
Amido dextrinizado	132,000	132,000	132,000	132,000	132,000
Sacarose	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Óleo de soja	70,000				
Banha suína		150,000			
Óleo Comercial de Castanha-do-Brasil			70,000		
Fibra (celulose)	50,000	50,000	50,000		
Mistura Mineral (AIN-93M-MX)	35,000	35,000	35,000	35,000	35,000
Mistura Vitamínica (AIN-93VX)	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000
L-cistina	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Bitartarato de colina – 41,1% de colina	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500
Tetra-butilhidroquinona	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
Amêndoa de Castanha-do-Brasil					115,40
Farinha de Castanha-do-Brasil				148,520	
Total	1000	1000	1000	1000	1000

Tabela 3.5 - Formulação de dietas experimentais para manutenção de peso de ratos (AIN-93M), conforme Reeves *et al.* (1993), utilizada no ensaio biológico na segunda fase

INGREDIENTES	Composição (g.Kg ⁻¹)				
	AIN-93M ¹	Hipercalórica ²	Hipercalórica Óleo de Castanha-do-Brasil ³	Hipercalórica Farinha ⁵	Hipercalórica Amêndoa ⁴
Amido de milho (q.s.p)	416,622	268,972	268,972	342,232	362,662
Caseína (≥ 75,38% de proteína)	157,870	225,520	225,520	123,740	136,430
Amido dextrinizado	155,000	155,000	155,000	155,000	155,000
Sacarose	100,000	100,000	100,000	100,000	100,000
Óleo de soja	70,000				
Banha suína		150,000	80,000	80,000	80,000
Óleo Comercial de Castanha-do-Brasil			70,000		
Fibra (celulose)	50,000	50,000	50,000		
Mistura Mineral (AIN-93M-MX)	35,000	35,000	35,000	35,000	35,000
Mistura Vitamínica (AIN-93VX)	10,000	10,000	10,000	10,000	10,000
L-cistina	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Bitartrato de colina – 41,1% de colina	2,500	2,500	2,500	2,500	2,500
Tetra-butilhidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Amêndoa de Castanha-do-Brasil					115,40
Farinha de Castanha-do-Brasil				148,52	
Total	1000	1000	1000	1000	1000

Tabela 3.6 - Mistura mineral para ratos em crescimento (AIN-93G) e manutenção de peso (AIN-93M), conforme Reeves *et al.* (1993), utilizada no ensaio biológico

INGREDIENTES	Composição (g,Kg ⁻¹)			
	AIN 93 - G	AIN 93 - G	AIN 93 - M	AIN 93 - M
	(com selênio)	(sem selênio)	(com selênio)	(sem selênio)
Elementos minerais essenciais				
Carbonato de cálcio anidro - 40,04%	357,00	357,00	357,00	357,00
Fosfato de potássio monobásico - 22,76% P; 28,73%K	196,00	196,00	250,00	250,00
Citrato de potássio, tri potássio, monoidratado 36,16%K	70,78	70,78	28,00	28,00
Cloreto de sódio - 39,34% Na, 60,66% Cl	74,00	74,00	74,00	74,00
Sulfato de potássio - 44,87% K, 18,39% S	46,60	46,60	46,60	46,60
Óxido de magnésio - 60,32%	24,00	24,00	24,00	24,00
Citrato de ferro - 16,5%	6,06	6,06	6,06	6,06
Carbonato de zinco - 52,14% Zn	1,65	1,65	1,65	1,65
Carbonato de manganês - 47,79% Mn	0,63	0,63	0,63	0,63
Carbonato de cobre - 57,47% Cu	0,30	0,30	0,30	0,30
Iodeto de potássio, 59,3% I	0,01	0,01	0,01	0,01

Tabela 3.6 - Mistura mineral para ratos em crescimento (AIN-93G) e manutenção de peso (AIN-93M), conforme Reeves *et al.* (1993), utilizada no ensaio biológico (continuação)

INGREDIENTES	Composição (g,Kg ⁻¹)			
	AIN 93 - G	AIN 93 - G	AIN 93 - M	AIN 93 - M
	(com selênio)	(Sem selênio)	(com selênio)	(Sem selênio)
Elementos minerais essenciais				
Selenato de sódio anidro - 41,79% se	0,01025	-	0,01025	-
Paramolibdato de amonio, 4 H ₂ O, 54,34% Mo	0,00795	0,00795	0,00795	0,00795
Elementos minerais potencialmente benéficos				
Meta-silicato de sódio, 9H ₂ O , 9,88% Si	1,4500	1,4500	1,4500	1,4500
Sulfato de potássio crômico, 12H ₂ O, 10,42% Cr	0,2750	0,2750	0,2750	0,2750
cloridrato de lítio - 16,38% Li	0,0174	0,0174	0,0174	0,0174
Ácido bórico - 17,5% B	0,0815	0,0815	0,0815	0,0815
Fluoreto de sódio - 45,24% F	0,0635	0,0635	0,0635	0,0635
Carbonato de níquel - 45% Ni	0,0318	0,0318	0,0318	0,0318
Vanadato de amônio - 43,55% V	0,0066	0,0066	0,0066	0,0066
Sacarose (q,s,p,)	221,0260	221,0260	209,8060	209,8060

Tabela 3.7 - Mistura vitamínica para ratos em crescimento (AIN-93G) e manutenção de peso (AIN-93M), conforme Reeves *et al.* (1993), utilizada no ensaio biológico

VITAMINAS	g.kg⁻¹
Ácido nicotínico	3,000
Pantotenato de cálcio	1,600
Piridoxina – HCL	0,700
Tiamina – HCL	0,600
Riboflavina	0,600
Ácido fólico	0,200
D-biotina	0,020
Cianocobalamina (B12) (0,1% de manitol)	2,500
Vitamina E (all-rac- α - tocoferol acetato) (500 UI/g)	15,00
Vitamina A (all-trans-retinil palmitato) (500UI/g)	0,800
Vitamina D3 (colicalciferol) (400iu/g)	0,075
Vitamina K (filoquinona)	0,250
Sacarose (q.s.p.)	974,655

Tabela 3.8 - Composição proximal da amêndoa e farinha de Castanha-do-Brasil

Ingredientes*	Composição (%)					
	Umidade	Lipídeos	Proteínas	Cinzas	Fibras	Carboidratos
Amêndoa						
Castanha-do-Brasil	3,06±0,36	60,66±0,61	14,00±0,20	3,31±0,20	2,31±0,20	16,61±0,79
Farinha de						
Castanha-do-Brasil	7,37±0,19	46,40±1,34	16,90±0,73	5,05±0,02	2,66±0,03	21,77±1,89

*Os valores correspondem à média de três repetições com estimativa de desvio padrão.

2.3.2 Eutanásia dos animais

Após jejum de 12 horas, os animais foram decapitados e o sangue e os órgãos rins, fígado e coração retirados e pesados. Parte do fígado e coração foram preparados para as análises histológicas e uma porção do fígado foi congelada, para posterior determinação de selênio.

2.3.3 Determinação do Coeficiente de Eficácia Alimentar

A partir dos pesos dos animais monitorados semanalmente e da ingestão alimentar controlada diariamente, foi possível calcular o ganho de peso e o Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) pela equação 1 (SGARBIERI, 1996).

$$CEA(\%) = \left(\frac{Gp}{Ca} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

Gp = ganho de peso (g);

Ca = consumo alimentar (g)

2.3.4 Massa do fígado, rins e coração

O coração, rins e fígado foram removidos e lavados com soro fisiológico, secos em papel filtro e pesados em balança de precisão (MARTE®). O fígado após pesagem foi separado em três partes, das quais a primeira foi congelada imediatamente em nitrogênio líquido e mantida a - 80°C (ultralow freezer-Nuire Inc, MN, USA) para determinação de selênio e as outras duas partes para realização de análises histológicas, descritas na sequência.

2.3.5 Relação da massa do fígado e dos rins

A relação das massas do fígado e dos rins foi realizada no término do experimento, após a eutanásia, com a remoção e a pesagem dos referidos órgãos dos animais, conforme descrito na equação 2.

$$\text{Relação} = \frac{\text{Massa do órgão (g)}}{\text{Peso final dos animais (g)}} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

2.3.6 Análises bioquímicas do sangue

O sangue foi coletado e centrifugado em temperatura ambiente durante 15 minutos a 3500 rotações por minuto. No soro foram realizadas análises bioquímicas referentes aos níveis de triacilgliceróis (mg.dL⁻¹), colesterol total e frações (mg.dL⁻¹), utilizando Kit da marca LABTEST, calculados de acordo com a fórmula de Friedewald (1972). Ainda foram realizados testes de função hepática incluindo a Aspartato aminotransferase - AST (UL⁻¹), Alanina aminotransferase - ALT (UL⁻¹), Fosfatase Alcalina - FA (UL⁻¹), Bilirrubina direta e indireta (mg.dL⁻¹); proteínas totais (g.dL⁻¹) e albumina sérica (g.dL⁻¹), utilizando Kit da marca LABTEST (LABTEST, 1999). Todas as análises foram realizadas em sistema automático marca LABMAX 240. A glicemia (mg.dL⁻¹), foi determinada pelo método direto, ADVANTAGE-LILLY em uma gota de sangue.

2.3.7 Análises histológicas dos órgãos

Para microscopia ótica, foram coletados fragmentos de fígado e coração, fixados em formalina tamponada a 10 %, processados em histotécnico automático sakura, incluídos em parafina, cortados com 5 µm de espessura em micrótomo Leica Reichert Jung RM 2025, e corados pela técnica de hematoxilina-eosina. Após coloração foram fotografados no microscópio óptico

NICKON, com filme KODAK colorido de 400 ASA, com uma ampliação de 2,5X, 10X e 40X.

Amostras de 2 mm³ do fígado dos animais submetidos aos diferentes tratamentos foram coletadas para realização da microscopia eletrônica. O material foi fixado em glutaraldeído a 2 %, com 2 % de paraformaldeído em 0,4 M de cacodilato tamponado (pH 7,4), pós fixado em 1 % de tetróxido de ósmio tamponado em cacodilato de sódio (pH 7,4) e incluído em Epon. Secções semifinas foram coradas com azul de metileno. Secções ultrafinas foram contrastadas com citrato de chumbo e acetato de uranila e examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 109.

2.4 Determinação de selênio

A determinação de selênio nas dietas, plasma sanguíneo e fígado, foram realizadas por espectrometria de emissão atômica por Plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), (Perkin Elmer, modelo Optima 2100 DV, USA) equipado com um nebulizador concêntrico com câmara de nebulização ciclônica (ANGELUCCI e MANTOVANI, 1986).

Preparo da amostra - As amostras de castanha foram trituradas em um processador de alimentos (Walita, modelo mega master RI3170, 500W), e mantidas em dessecador, com a finalidade de não absorver a umidade do ar. Seguiu-se a digestão em bloco digestor (Marconi, modelo MA 4025, Piracicaba, Brasil), com capacidade para quarenta tubos. Para a digestão das amostras foram pesados entre 0,4 e 0,5 g, nas quais foi adicionado 5 mL de HNO₃ 65 % (m/v) (Merck). A temperatura inicial do bloco foi de 40°C com uma rampa de aquecimento de 15°C a cada trinta minutos. Após 1 hora de aquecimento a 130°C foi adicionado 1 mL de H₂O₂ concentrado (Synth) e manteve-se sob aquecimento por mais 4 horas, totalizando 8 horas de digestão. Estes digeridos foram aferidos a 50 mL com água ultrapura. Estas condições severas de digestão foram necessárias devido ao elevado teor de óleo presente nas amostras.

Procedimento de quantificação - A quantificação foi feita através de um espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICPOES) (Perkin Elmer, modelo Optima 2100 DV, USA) equipado com um nebulizador concêntrico com câmara de nebulização ciclônica. Inicialmente, foi feito um ajuste de forma univariada dos parâmetros de operação do ICPOES, conforme tabela 3.9.

Foi feita uma curva de calibração de 5 a 150 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a partir de uma solução estoque multi-elementar SCP33MS de 10 mg.L^{-1} contendo Selênio (SCP Science, UK) com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,99994. Para a avaliação da exatidão e precisão do método empregado foi determinada a concentração de selênio em um material de referência certificado (CRM). O CRM foi submetido ao mesmo programa de aquecimento utilizado para as amostras.

Tabela 3.9 - Parâmetros de operação do ICPOES

Parâmetros	Valor
Potência do gerador de RF (W)	1300
Vazão de Ar: Gás do plasma (L min^{-1})	15
Gás auxiliar (L min^{-1})	0,2
Gás do nebulizador (L min^{-1})	0,8
Linha espectral (nm)	196,026

2.5 Análises Estatísticas

Os resultados foram tabelados no *software* Excel da *Microsoft Office* 2010 e avaliados estatisticamente segundo a análise de média aritmética e desvio padrão. Os valores foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e aplicado teste de Tukey-Kramer, para a verificação da existência de diferenças estatísticas entre as médias, com nível de significância de $\leq 0,05$ para as variáveis analisadas. A partir da constatação da significância,

os efeitos das dietas experimentais em relação a Controle foram avaliados pelo teste de Dunnett ($\leq 0,05$). Para as análises dos dados foi utilizado o *software BioEstat* versão 5.0.

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Primeira fase experimental

Nesta fase, durante 5 semanas, os animais foram submetidos a 5 dietas diferentes de acordo com a AIN-93G: dieta Controle, Hipercalórica e três dietas experimentais com componentes oriundos da Castanha-do-Brasil, as dietas com Farinha, Óleo e Amêndoa. As três dietas experimentais, a exemplo da dieta Controle eram normocalóricas (7 % de lipídeos e 17 % de proteínas), sendo que a fonte lipídica da dieta Controle foi óleo de soja. Nas dietas Farinha e Amêndoa, o constituinte lipídico foi intrínseco, e para a dieta Óleo utilizou-se o óleo comercial de Castanha-do-Brasil. Na dieta Hipercalórica (15 % de lipídeos e 17 % de proteínas), a fonte lipídica foi a banha suína. Desta forma, nesta fase, observou-se o impacto da utilização das dietas experimentais na fisiologia do organismo dos animais submetidos aos diferentes tratamentos, em função da presença de elementos funcionais nos produtos da Castanha-do-Brasil.

3.1.1 Consumo alimentar e ganho de peso na primeira fase

O consumo alimentar (Tabela 3.10) dos animais submetidos aos diferentes tratamentos ao longo do período experimental em comparação aos alimentados com dieta Controle apresentou diferença significativa, para os mantidos com dieta Farinha, com redução de 24,38 % em relação a dieta Controle. Os resultados observados concordam com os apresentados por Mattes e Dreher (2010), citado por Fernandes (2011), que afirmaram que a ingestão de sementes comestíveis e de nozes provoca sensação de saciedade, sobretudo pelo conteúdo considerável de proteínas e fibras desses alimentos, o que é corroborado pela necessidade de mastigação intensa durante seu

consumo; no caso, observado para os alimentados com dieta farinha que contém um quantitativo maior de fibras e proteínas.

Tabela 3.10 - Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de ratos submetidos as dietas experimentais na primeira fase

Dieta	Consumo Total (gramas)		Ganho de Peso (gramas)		Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA) (%)	
Controle	582,22±38,90 ^a		170,15±15,10 ^a		29,19±0,96 ^a	
Hipercalórica	526,49±37,27 ^{ab}	ns	153,27±14,69 ^a	ns	29,12±2,07 ^a	ns
Farinha	440,28±67,86 ^b	*	119,34±20,87 ^b	*	27,20±3,16 ^a	ns
Óleo	524,36±62,54 ^{ab}	ns	153,69±14,89 ^a	ns	29,43±2,21 ^a	ns
Amêndoa	520,11±47,73 ^{ab}	ns	158,55±14,73 ^a	ns	30,53±2,08 ^a	ns
Média Geral	518,69		151,00		29,10	
CV (%)	12,92		15,18		8,00	

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnet ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os valores correspondem à média de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV: coeficiente de variação.

Quanto ao consumo diário médio (Tabela 3.11) dos animais submetidos aos diferentes tratamentos em relação a dieta Controle, identificou-se diferença significativa, com menor consumo para os alimentados com a dieta Farinha. Identificou-se que o consumo energético dos alimentados com dieta Farinha (48,22 Kcal/dia) foi 33,22 % menor que o dos alimentados com dieta Controle (72,21 Kcal/dia).

O menor consumo calórico, por parte dos alimentados com a dieta Farinha (Tabela 3.11) pode ter se dado em função do consumo de castanhas, mais especificamente da farinha de castanha, pois segundo Kirkmeyer e Mattes (2000), as castanhas são alimentos de alta energia e ricos em ácidos graxos insaturados, que causam saciedade, portanto suprimem a fome e os limites da ingestão de outros alimentos com alta densidade energética. Sendo ainda importante reafirmar o postulado por Mattes e Dreher (2010), que indicam que a ingestão de sementes comestíveis e de nozes provoca sensação de saciedade. No que tange as fibras, o caráter hidrofílico de certas fibras,

como as pectinas e gomas, fazem com que a taxa de esvaziamento gástrico seja mais lenta, aumentando a saciedade e, conseqüentemente a diminuição de ingestão de alimentos. (FIETZ e SALGADO, 1999).

No que se refere ao ganho de peso (Tabela 3.10), foi observada diferença significativa, com menor ganho de peso para os animais alimentados com a dieta Farinha; a redução de peso em relação a dieta Controle foi de 29,86%. Esta redução de peso pode estar associada a ingestão da farinha, visto que segundo Fernandes (2011) citando Casas-Agustench *et al.* (2009), a ingestão de sementes comestíveis e de nozes estão associadas com o aumento do gasto energético ou termogênese.

No entanto, o Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA) não apresentou diferença significativa, embora tenha sido observada, uma redução de 6,82 % para os alimentados com a dieta Farinha em relação à dieta Controle.

Diante dos resultados quanto ao consumo e ganho de peso, verificou-se que embora o menor consumo calórico por parte dos alimentados com dieta Farinha, não houve impacto negativo no coeficiente de eficácia alimentar.

Tabela 3.11 - Consumo diário total em função de macronutrientes ingeridos nas diferentes dietas na primeira fase experimental

Dieta	Consumo Diário Total (g)	Kcal/Diária	Consumo Diário de Nutrientes*					
			Lipídeos		Proteína		Carboidratos	
			(g)	Kcal	(g)	Kcal	(g)	Kcal
Controle	16,63±1,11 ^a	64,54	1,19	10,71	2,83	11,32	10,63	42,63
Hipercalórica	15,04±1,06 ^a ns	65,31	2,25	20,25	2,56	10,24	8,70	34,82
Farinha	12,58±1,94 ^b *	48,26	0,90	8,14	2,16	8,66	7,86	31,46
Óleo	14,98±1,79 ^a ns	58,69	1,06	9,60	2,55	10,20	9,72	38,89
Amêndoa	14,86±1,36 ^a ns	57,45	1,06	9,54	2,56	10,23	9,41	37,68
Média Geral	14,82	58,85						
CV (%)	12,91	11,66						

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnet ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os valores correspondem à média de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV: coeficiente de variação.

3.1.2 Massa de órgãos e relação do peso do fígado e rins pelo peso corporal na primeira fase

Os pesos do fígado e do coração não apresentaram diferença significativa, enquanto o peso dos rins apresentou, quando em comparação com a dieta Controle, com menor peso observado para os animais alimentados com a dieta Farinha e dieta amêndoa, embora não tenha apresentado diferença estatística (Tabela 3.12). No entanto, a relação peso dos rins pelo peso final não apresentou diferença significativa entre os diferentes tratamentos, o que provavelmente demonstra a princípio, não ser uma anormalidade fisiológica ou bioquímica, e sim uma proporcionalidade ao peso dos animais alimentados com a dieta Farinha e dieta amêndoa.

A relação peso fígado, pelo peso final (Tabela 3.12), não apresentou diferença significativa em comparação aos alimentados com a dieta Controle, no entanto cabe considerar que a maior relação de peso do fígado pelo peso final, foi observada para os animais alimentados com dieta Farinha.

Tabela 3.12 - Massa do fígado, rins e relação hepatossomática e dos rins dos animais alimentados com as diferentes dietas experimentais na primeira fase

Dieta	Peso do Fígado (gramas)	Peso do Coração (gramas)	Peso dos Rins (gramas)	Relação Peso do Fígado/Peso Final (%)	Relação Peso dos Rins/Peso Final (%)
Controle	8,60±0,80 ^a	1,14±0,13 ^a	2,53±0,11 ^a	3,34±0,02 ^a	0,98±0,01 ^a
Hipercalórica	8,51±1,04 ^a ns	1,18±0,13 ^a ns	2,43±0,20 ^a ns	3,33±0,04 ^a ns	0,95±0,01 ^a ns
Farinha	7,50 ±1,33 ^a ns	0,98±0,15 ^a ns	2,00±0,24 ^b *	3,54±0,04 ^a ns	0,94±0,01 ^a ns
Óleo	7,73±1,12 ^a ns	1,06±0,11 ^a ns	2,36±0,10 ^a ns	3,25±0,04 ^a ns	0,99±0,01 ^a ns
Amêndoa	7,93±1,86 ^a ns	1,19±0,16 ^a ns	2,22±0,23 ^{ab} *	3,23±0,06 ^{la} ns	0,90±0,01 ^a ns
Média Geral	8,06	1,11	2,31	3,34	0,96
CV (%)	15,77	13,83	11,16	9,8	9,50

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV= Coeficiente de Variação.

3.1.3 Avaliação bioquímica na primeira fase

A avaliação dos parâmetros bioquímicos (Tabela 3.13) do colesterol e suas frações indicaram que em comparação com a dieta Controle, o colesterol total (CT) não apresentou diferença significativa, apontando que as diferentes dietas não induziram a modificação do perfil colesterolêmico nos animais. Os resultados concordam com os achados de Strunz *et al.* (2008), que em estudo realizado em humanos, adultos, saudáveis suplementados por 15 dias com 45 gramas de Castanha-do-Brasil/dia, observaram que a suplementação não teve efeito sobre o perfil lipídico, o que poderia estar relacionado ao elevado conteúdo de ácidos graxos saturados presentes na Castanha-do-Brasil.

O colesterol ligado a lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), apresentou diferença significativa, com incremento nos níveis de LDL-C (Tabela 3.13) para os animais alimentados com as dietas Hipercalórica, Farinha e Amêndoa e manutenção dos níveis para os alimentados com a dieta Óleo, quando da comparação a dieta Controle.

Tabela 3.13 - Perfil lipídico de ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase

Dieta	CT-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	LDL-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	HDL-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	VLDL-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	Relação LDL/HDL- Colesterol
Controle	73,83 ±0,75 ^a	36,10±0,24 ^a	26,97±0,76 ^a	10,77 ±0,44 ^a	1,33 ±0,03 ^a
Hipercalórica	74,74 ±0,40 ^a ns	39,13 ^b ±0,48 ^b *	24,84±0,98 ^{ab} *	10,77±0,50 ^a ns	1,58 ±0,08 ^b *
Farinha	75,73±0,97 ^a ns	41,60±,1,24 ^c *	24,30 ±0,62 ^b *	9,84±0,67 ^{ab} *	1,71 ±0,07 ^c *
Óleo	74,50±2,32 ^a ns	36,30 ±0,27 ^a ns	28,56 ±2,25 ^c ns	9,30±0,52 ^b *	1,28 ±0,10 ^a ns
Amêndoa	75,20±1,72 ^a ns	38,13±0,45 ^b *	28,73 ±1,50 ^c ns	8,33±0,81 ^{bc} *	1,33 ±0,07 ^a ns
Média Geral	74,74	38,25	26,68	9,8	1,44
CV (%)	1,99	5,60	8,47	11,18	12,73

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett (p≤0,05). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV= Coeficiente de Variação.

No que se refere a concentração de LDL-C identificada neste trabalho, deve-se levar em consideração o quantitativo de ácidos graxos saturados intrínsecos presentes nas dietas Farinha e Amêndoa (24,85 %) e na dieta Hipercalórica (38 %), quantidades expressivas de gordura saturada que segundo Shills *et al.* (2003) podem levar ao aumento de colesterol no sangue, impedindo a ação efetiva dos receptores de LDL-C, dificultando assim a eliminação desta lipoproteína.

No entanto, cabe observar que a dieta Óleo de Castanha-do-Brasil a exemplo da dieta Controle, teve como fonte proteica exclusiva a caseína, diferentemente das dietas Amêndoa e Farinha que utilizaram parte da fonte proteica oriunda da Castanha-do-Brasil, respectivamente 16,67 % e 22,25 % do total da proteína da dieta. Os resultados observados em relação ao LDL-C, demonstraram similaridade na concentração desta lipoproteína para os animais com as dietas Óleo e Controle, o que pode ser justificado pela qualidade de aminoácidos presentes nestas dietas. Segundo estudo realizado por Berno, Poeta e Maróstica Júnior (2010), quando comparado o aminograma dos aminoácidos relacionados ao ciclo da glutathione reduzida (importante na defesa celular contra o estresse oxidativo) da caseína ($18,74 \pm 0,31 \text{ g.100 g}^{-1}$ de Ácido Glutâmico; $1,66 \pm 0,15 \text{ g.100 g}^{-1}$ de Cisteína e $2,20 \pm 0,08 \text{ g.100 g}^{-1}$ de Metionina) e da dieta contendo 12,5% de torta de Castanha-do-Brasil ($2,81 \pm 0,06 \text{ g.100 g}^{-1}$ de Ácido Glutâmico; $0,32 \pm 0,05 \text{ g.100 g}^{-1}$ de Cisteína e $0,35 \pm 0,03 \text{ g.100 g}^{-1}$ de Metionina), o aminograma da caseína demonstrou um quantitativo bem superior dos três aminoácidos, em detrimento dos encontrados na dieta com torta. Pode-se inferir ainda que os resultados de LDL-C para os animais do grupo Óleo, pode ter tido influência da qualidade em aminoácidos da caseína e do selênio presente na mistura mineral desta dieta, uma vez que houve adição de mistura mineral com selênio e a fonte proteica das dietas Controle, Hipercalórica e Óleo foi a caseína.

O selênio, como um poderoso antioxidante, está envolvido na manutenção da concentração ideal de glutathione redutase (GSH), através da ação da enzima selênio-dependente de glutathione peroxidase (GPx). A glutathione peroxidase fosfolípido hidroperóxido (GPx4) é responsável pela destruição redutiva de hidroperóxidos lipídicos. A GPx4 reage com

hidroperóxidos fosfolipídicos e com hidroperóxidos pouco solúveis, além de metabolizar colesterol e hidroperóxidos de éster de colesterol em lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (TAPIERO *et al.*, 2003).

Embora as considerações sobre o selênio presente na mistura mineral das dietas Controle e Óleo não possibilitem afirmar com certeza sua relação direta com a similitude dos resultados observados para a LDL-C, pressupõe-se que deve ser um aspecto a ser considerado nos resultados obtidos.

Os níveis de colesterol ligado a lipoproteína de alta densidade (HDL-C) apresentados na tabela 3.13 apontaram diferença significativa, demonstrando diminuição dos níveis para os animais alimentados com as dietas Hipercalórica e Farinha e aumento não significativo dos níveis para os alimentados com as dietas Óleo e Amêndoa, quando em comparação com a dieta Controle. O impacto da dieta Farinha e Hipercalórica sobre esta lipoproteína enseja que a presença de ácidos graxos saturados pode ter sido o fator determinante.

Os resultados, diferem dos achados de Giuliano *et al.* (2005) que afirmam que o consumo de Castanha-do-Brasil tem uma relação positiva com o colesterol HDL-C, em função dos ácidos graxos ômega 3 e 6 presentes na castanha. Pois as dietas experimentais não promoveram impacto positivo sobre esta variável.

Quanto a relação LDL/HDL (Tabela 3.13), Jaekel (2008) em seu estudo refere que esta relação é utilizada para calcular o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, indicando que valores elevados de LDL-colesterol podem predispor ao aparecimento de doenças coronarianas, e que a maior concentração de HDL-colesterol protege o organismo do aparecimento de doenças coronarianas. Em sendo assim, entende-se que quanto menor a relação LDL/HDL, maior o fator protetivo no organismo, no que se refere as doenças cardiovasculares. Neste trabalho experimental, observou-se para a relação LDL/HDL, diferença significativa, com maior relação para os com dietas Hipercalórica e Farinha, enquanto que para os alimentados com dieta Óleo e Amêndoa os valores se mantiveram mais próximos do observado nos animais alimentados com a dieta Controle, portanto, as dietas Óleo e Amêndoa, em relação a esta variável, assumiram igualmente ação protetiva sobre o organismo, no que se refere a prevenção de cardiopatias.

As lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-C) apresentaram diferença estatística significativa em relação ao observado para a dieta Controle, com redução sérica para os animais dos grupos Farinha, Óleo e Amêndoa e manutenção dos níveis para os animais alimentados com dieta Hipercalórica.

Os resultados indicaram que as dietas experimentais, no que se refere a variável VLDL-C, tiveram um comportamento positivo, o que se justifica pelas considerações de Jenkins *et al.* (2002), que afirmam que o óleo de nozes e sementes comestíveis, por serem compostos por quantidades apreciáveis de ácido graxo oleico (C18:1) e linoleico (C18:2), contribuem para a redução das frações de VLDL-C; ou por outra, o consumo de nozes, podem ter impacto positivo sobre o perfil lipídico.

De modo geral ácidos graxos insaturados, podem pela diminuição da síntese hepática de VLDL-C, promover a redução dos triacilgliceróis plasmáticos (Tabela 3.14), como será visto na sequência, e ainda exercer outros efeitos protetores quanto ao aparecimento de doenças cardiovasculares (SPOSITO *et al.* 2007).

Tabela 3.14 - Níveis séricos de triacilgliceróis, proteína e glicose sanguínea no soro de ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase

Dieta	Triacilgliceróis (mg.dL ⁻¹)		Glicose (mg.dL ⁻¹)		Proteínas Totais (g.dL ⁻¹)	
Controle	53,84±2,23 ^a		113,00±2,40 ^a		6,34±0,27 ^a	
Hipercalórica	53,84±2,48 ^a	ns	102,83±2,79 ^b	*	6,20±0,23 ^a	ns
Farinha	49,16±3,37 ^{ac}	*	107,66±2,04 ^{bc}	*	6,07±0,23 ^a	ns
Óleo	46,50±2,58 ^{bc}	*	108,00±4,69 ^c	*	6,01±0,31 ^a	ns
Amêndoa	41,67±4,08 ^b	*	108,33±2,25 ^{ac}	*	6,10±0,25 ^a	ns
Média Geral	49,00		107,90		6,14	
CV (%)	11,18		4,03		4,35	

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV= Coeficiente de Variação.

A concentração de triacilgliceróis séricos (Tabela 3.14) apresentou diferença significativa quando comparada a dieta Controle. Os alimentados com dieta Farinha, Óleo e Amêndoa apresentaram redução significativa dos níveis, enquanto os animais com dieta Hipercalórica tiveram comportamento similar ao observado para os alimentados com a dieta Controle. Estes resultados, estão de acordo com os achados de Maranhão *et al.* (2011), que em estudo realizado em humanos, evidenciaram que a suplementação de Castanha-do-Brasil ao longo de 16 semanas em adolescentes obesos do sexo feminino, mostrou impacto positivo sobre o perfil lipídico, no caso os triacilgliceróis.

Quanto à diminuição de triacilgliceróis observada para os animais com dietas experimentais, se podem considerar os achados de Chen, Lii e Wang (1995), que afirmam que quando da comparação do consumo de fontes lipídicas saturadas e polinsaturadas em modelos animais, os triacilgliceróis séricos tem redução significativa quando se trata de fonte polinsaturada, neste caso considera-se o quantitativo de ácidos graxos polinsaturados presente na dieta Farinha, Óleo e Amêndoa.

A glicemia dos animais submetidos aos diferentes tratamentos (Tabela 3.14), em relação a dieta Controle, indicou diferença estatística significativa, proporcionando redução dos valores para os alimentados com as dietas experimentais e Hipercalórica. É importante considerar os achados de Ikemoto *et al.* (1996), que afirmam que a energia fornecida pelos lipídeos, no caso da dieta Hipercalórica, muitas vezes leva a uma utilização reduzida de glicose do tecido, causando assim, a hiperglicemia e hiperinsulinemia, o que não foi observado nesta etapa experimental, visto que houve uma redução dos níveis de glicose sanguínea dos animais alimentados com as dietas experimentais e dieta hipercalórica. No caso das dietas experimentais, acredita-se que a diferença estatística observada possa ter se dado em função da ação do ácido graxo oléico, que pode ter desempenhado um efeito semelhante ao da insulina no hipotálamo dos animais, causando diminuição de produção de glicose hepática e da ingestão calórica (OBICI *et al.*, 2002).

Os níveis de proteína plasmática (Tabela 3.14) dos animais submetidos às dietas experimentais não apresentaram diferença significativa em relação a Controle. Estes resultados podem ter sido um indicativo de não ter havido alterações de função, como: transporte, imunidade humoral, manutenção de pressão osmótica, enzimáticas entre outros.

Estes resultados são corroborados pelo fato de que a albumina, proteína mais abundante no sangue não ter apresentado também diferenças significativas para os animais dos diferentes tratamentos (Tabela 3.16), pois dentre muitas funções, na circulação entero-hepática, sais e ácidos biliares são transportados ligados a essa proteína, da mesma forma que os ácidos graxos no sangue. Este pode ser o indicativo de não ter havido problemas com a absorção, nutrição, ou o aparecimento de doença hepática (CHAMPE, HARVEY e FERRIER, 2006).

Tabela 3.15 - Concentração de selênio no plasma e no fígado de ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase

Dieta	Concentração		
	Selênio - Dieta ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Selênio - Plasma ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Selênio - Fígado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Controle	1,55 $\pm$ 0,01 ^a	640,07 $\pm$ 23,18 ^a	1,67 $\pm$ 0,04 ^a
Hipercalórica	1,43 $\pm$ 0,01 ^{ab} *	569,05 $\pm$ 25,25 ^c *	1,61 $\pm$ 0,03 ^a ns
Farinha	11,10 $\pm$ 0,06 ^d *	1569,30 $\pm$ 16,12 ^e *	8,08 $\pm$ 0,38 ^c *
Óleo	1,30 $\pm$ 0,01 ^{bc} *	444,32 $\pm$ 12,36 ^b *	1,57 $\pm$ 0,01 ^a ns
Amêndoa	12,22 $\pm$ 0,06 ^e *	879,87 $\pm$ 30,30 ^d *	4,31 $\pm$ 0,18 ^b *

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p\leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p\leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV=Coeficiente de Variação.

A concentração de selênio nas dietas (Tabela 3.15) mostrou diferença significativa entre os tratamentos, com maiores valores observados para as elaboradas com amêndoa e farinha de castanha. No plasma a concentração de selênio demonstrou diferença significativa. Quando comparadas com a dieta Controle, a concentração no plasma dos animais alimentados com as dietas Hipercalórica e Óleo reduziu, enquanto que nos animais submetidos as dietas Amêndoa e Farinha houve aumento dos níveis, sendo que para os animais com dieta Farinha a concentração mais que duplicou. Os resultados indicaram que nos animais alimentados com a dieta Farinha os níveis plasmáticos

apresentaram-se superiores a 1 mg.L^{-1} , o que pode ser um indicativo de selenose (FRAGA, 2005). Na comparação da concentração plasmática de selênio (Tabela 3.15) e o quantitativo de selênio ofertado na dieta, verificou-se maiores níveis plasmáticos para os animais submetidos as dietas Farinha (dieta: $11,1 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$; plasmático: $1569,30 \pm 16,12 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e Amêndoa (dieta: $12,22 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$; sérico: $879,87 \pm 30,30 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), em relação a dieta Controle (dieta: $1,55 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$; plasmático: $569,05 \pm 25,25 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$).

No estudo de Finley *et al.* (2000), quando comparados ao quantitativo plasmático normal de selênio em ratos F344, $577,20 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, com os observados no presente estudo, os animais com dieta Hipercalórica ($640,07 \pm 23,18 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), Controle ($569,05 \pm 25,25 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e Óleo ($444,31 \pm 12,36 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), apresentam resultados semelhantes aos encontrados pelos autores, enquanto os observados para os alimentados com as dietas Farinha ($1569,30 \pm 16,12 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e Amêndoa ($879,87 \pm 30,30 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) foram muito superiores.

No entanto as concentrações séricas para os submetidos as dietas Farinha e Amêndoa foram menores que as identificados por Sales (2007), que em estudo com ratos Fischer, alimentados por 11 semanas com dieta contendo castanha, encontrou $2076,83 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de selênio plasmático.

É importante considerar os achados de Strunz *et al.* (2008) que em estudo realizado com humanos adultos saudáveis, durante duas semanas com consumo de 45g de castanha/dia, observaram que houve aumento significativo na concentração de selênio sérico. Também estão em concordância com relatos de Thomson *et al.* (2008), que em estudo em humanos saudáveis, após suplementação de $100 \text{ } \mu\text{g}$ de selênio/dia (duas unidades de castanha, durante três meses, demonstrou elevação plasmática de selênio.

No estudo de Laclaustra *et al.* (2010), com 1159 pessoas foi observado que quando a concentração sérica deste mineral foi elevada, houve aumento de Colesterol total e LDL-C, o que está em concordância com os resultados observados para as dietas Farinha e Amêndoa., no que se refere ao LDL-C.

Em outro estudo realizado em humanos por Pires (2012), foi identificada associação positiva entre a ingestão de Castanha-do-Brasil e o aumento de selênio sérico, onde voluntários de 10 a 25 anos, de ambos os sexos, com diabetes tipo 1 foram avaliados antes e depois de consumirem $2,5 \text{ g}$ de

Castanha-do-Brasil (290 µg Se/dia) durante dois meses, não sendo identificadas modificações no perfil lipídico, exceto para HDL-C que se mostrou reduzida, havendo melhora do estado nutricional relativo a selênio para os pacientes em estudo. O que se contrapõe aos resultados observados neste estudo, visto que houve diminuição dos níveis de HDL-C dos alimentados com as dietas Farinha, assim como aumento dos níveis de LDL-C para os alimentados com as dietas Farinha, Amêndoa e Hipercalórica, embora tenha se observado redução sérica dos VLDL-C e triacilgliceróis dos animais alimentados com as dietas experimentais.

A concentração de selênio no fígado (Tabela 3.15) apresentou diferença significativa em relação a dieta Controle, com aumento significativo da concentração no fígado dos animais alimentados com as dietas Farinha e Amêndoa, enquanto no fígado dos animais alimentados com dieta Hipercalórica e Óleo houve manutenção dos níveis.

Os resultados apontam que as dietas Amêndoa e Farinha promoveram o aumento da concentração de selênio no plasma e fígado dos animais submetidos a estas dietas. Estes dados concordam com as considerações de Chunhieng *et.al.* (2004) que afirmam que as proteínas presentes na castanha, são das classes das albuminas, globulinas e glutelinas, e que as albuminas contêm maior quantidade de selênio, presente principalmente na forma de selenometionina e selenocisteína. Após absorção desta proteína, as espécies de selênio são transportadas para diferentes órgãos e tecidos, como o fígado, com a ajuda de transportadores protéicos, na maioria das vezes albumina ou selenoproteína P (SUZUKI *et al.*, 2009), o que pode em função da maior biodisponibilidade de selênio nas dietas Amêndoa e Farinha, justificar o quantitativo diferenciado deste mineral no fígado.

Cabe considerar que o impacto positivo da ingestão dietética de alimentos com quantidades expressivas de selênio é reafirmado por Rayman (2000) que atribue a ingestão dietética de alimentos ricos em selênio o efeito protetor referente ao dano oxidativo, sobre o DNA, proteínas, lipídeos e lipoproteínas, uma vez que o selênio é componente de selenoproteínas, que tem importantes propriedades antioxidantes.

3.1.4 Testes de função hepática na primeira fase

Os testes de função hepática (Tabela 3.16) bilirrubina direta, bilirrubina indireta, alanina aminotransferase e albumina sérica, não apresentaram diferenças significativas, enquanto que a aspartato aminotransferase, mostrou aumento significativo para os animais alimentados com a dieta Farinha.

Tabela 3.16 - Concentração de indicadores de função hepática no soro dos ratos alimentados com as diferentes dietas na primeira fase

Dietas	BD (mg.dL ⁻¹)	BI (mg.dL ⁻¹)	ALT (UL ⁻¹)	AST (UL ⁻¹)	FA (UL ⁻¹)	ALB (g.dL ⁻¹)	Relação AST/ALT
Controle	0,05 ±0,01 ^a	0,07 ±0,01 ^a	30,50 ±4,18 ^a	144,83 ±8,98 ^a	164,67 ±3,83 ^{ab}	3,30 ±0,10 ^a	4,83 ±0,77 ^a
Hipercalórica	0,05± 0,01 ^a ns	0,08 ±0,01 ^a ns	33,00 ±1,67 ^a ns	156,67 ±5,79 ^{ab} ns	160,33 ±16,74 ^a ns	3,16 ±0,25 ^a ns	4,76 ±0,40 ^a ns
Farinha	0,05 ±0,01 ^a ns	0,07 ±0,01 ^a ns	32,67 ±3,27 ^a ns	171,33 ±11,00 ^b *	189,67 ±11,18 ^c *	3,19 ±0,28 ^a ns	5,28 ±0,57 ^a ns
Óleo	0,04 ±0,01 ^a ns	0,07 ±0,01 ^a ns	35,17 ±4,26 ^a ns	153,00 ±12,33 ^{ab} ns	178,83 ±6,52 ^{bc} ns	3,20 ±0,14 ^a ns	4,38 ±0,37 ^a ns
Amêndoa	0,04 ±0,01 ^a ns	0,07 ±0,01 ^a ns	35,17± 6,64 ^a ns	147,67 ±14,38 ^{ac} ns	150,67 ±8,68 ^a ns	3,25 ±0,17 ^a ns	4,37 ±1,15 ^a ns
Média Geral	0,04	0,07	33,30	154,70	168,84	3,22	4,72
CV (%)	15,86	14,46	13,18	8,94	10,09	5,96	15,8

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV: Coeficiente de variação. Bilirrubina direta (BD), bilirrubina indireta (BI), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e albumina sérica (Alb).

A AST apresentou aumento significativo em relação à dieta Controle, o que de acordo com Motta (2003), em função de estar aumentada, pode significar a presença de algum dano hepático, podendo ser encontrada em altas concentrações no citoplasma e na mitocôndria de tecidos como fígado, coração, músculo esquelético, rins e pâncreas.

A relação AST/ALT (Tabela 3.16), não apresentou diferença estatística, de acordo com Caballero-Córdoba e Sgarbieri (2000), a relação AST/ALT, pode indicar o grau de lesão no hepatócito e de acordo com os autores, uma relação menor que 1,0 sugere lesão citoplasmática do hepatócito (hepatite infecciosa

aguda, mononucleose infecciosa, obstruções extra-hepáticas) e maior que 1,0, lesões citoplasmáticas mitocondriais do hepatócito (cirrose, esteatose, injúrias produzidas por drogas, hepatite crônica). Diante dos resultados, pode-se inferir que possivelmente tenha se estabelecido uma esteatose hepática, em função dos valores elevados, visto que a relação variou de $4,37 \pm 1,15$ a $5,28 \pm 0,57$. No entanto, cabe considerar que os valores para os alimentados com dieta Controle estavam em concordância com o observado por Moreira *et al.* (2011), para os alimentados com a dieta controle no trabalho publicado pelo autor.

A fosfatase alcalina (Tabela 3.16) indicou aumento significativo para os animais alimentados com a dieta Farinha (15,18%) em relação ao observado para os animais com dieta Controle. Este indicador de função hepática é encontrado em tecidos como o ósseo, sistema hepatobiliar e mucosa intestinal, podendo ser um indicador de fluxo biliar prejudicado, sendo que os níveis séricos podem se elevar em até 10 vezes (SANTOS *et al.*, 2008). Quando em comparação com os demais tratamentos os alimentados com a dieta Farinha apresentaram concentrações muito elevadas, o que pode sugerir alterações de fluxo biliar.

3.1.5 Avaliação anatomo-histológica na primeira fase

Através da avaliação macroscópica, não foram observadas alterações no coração, rins e fígado. Nos animais alimentados com as dietas experimentais e hipercalórica foi observada discreta vacuolização intracitoplasmática com padrão microvesicular nos hepatócitos adjacentes a veia centrolobular. As observações evidenciaram alterações nos hepatócitos, dos animais alimentados com as diferentes dietas, quando em comparação com a dieta Controle, independente da qualidade e quantidade de gordura utilizada na elaboração das dietas. A gordura acumulada nos tecidos, segundo Jaekel (2008) pode levar a uma lipotoxicidade, podendo causar esteatose hepática.

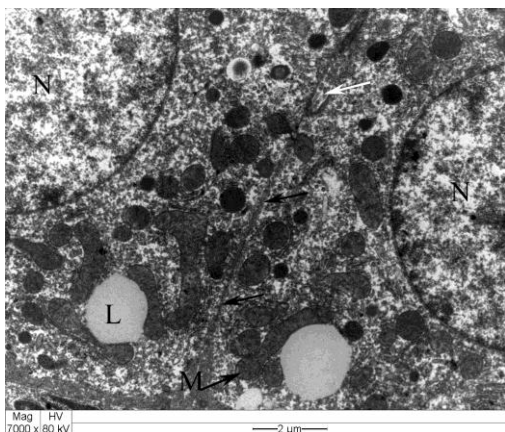


Figura 3.2. Fígado de animais alimentados com dieta Controle. Hepatócitos. Núcleo (N), membrana citoplasmática (seta preta), canalículo biliar (seta branca), L (Lipídeo), mitocôndria (M).

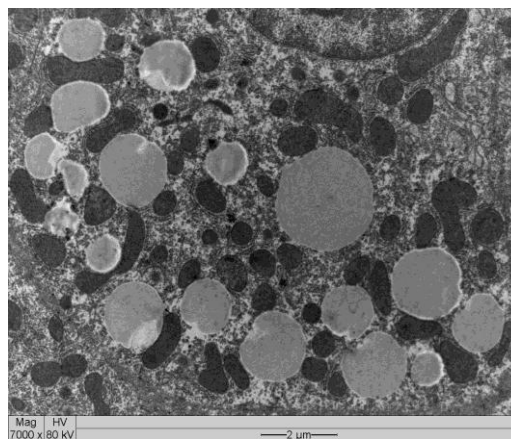


Figura 3.3. Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica. Hepatócito apresentando acentuado aumento das gotículas de gordura.

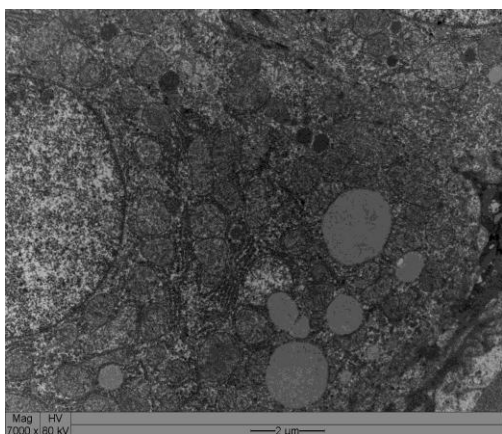


Figura 3.4. Fígado de animais alimentados com dieta Farinha. Hepatócito apresentando aumento das gotículas de gordura

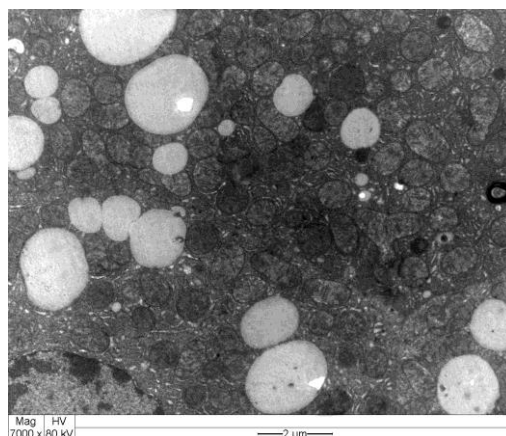


Figura 3.5. Fígado de animais alimentados com dieta Óleo. Hepatócito apresentando substancial aumento das gotas lipídicas e acentuado aumento das cisternas do RER (retículo endoplasmático rugoso).

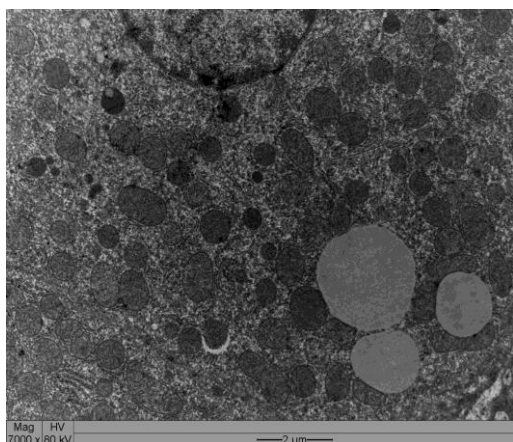


Figura 3.6. Fígado de animais alimentados com dieta Amêndoa. Hepatócito apresentando aumento das gotículas de gordura.

3.2 Segunda fase experimental

Na segunda fase do experimento, nos 35 dias seguintes, os ratos remanescentes que estavam com dieta Hipercalórica foram redistribuídos em quatro dietas, segundo a AIN-93M: Hipercalórica (15 % de banha suína e 12 % de proteína), as dietas Hipercalórica Farinha e Hipercalórica Amêndoa (7 % de lipídeos intrínsecos complementados com 8 % de banha de suína e 12 % de proteína) e Hipercalórica Óleo (7% de lipídeos do óleo comercial de castanha complementados com 8% de banha de suína e 12 % de proteína), com 6 animais por grupo; enquanto 6 animais que estavam com dieta Controle permaneceram com a dieta (7 % de óleo de soja e 12 % de proteína).

Desta maneira, nesta fase objetivou-se avaliar o comportamento fisiológico dos animais inicialmente submetidos a uma dieta Hipercalórica, com base em gordura saturada, e que na sequência experimental, tiveram substituição de 46,6 7% da fonte lipídica dietética, predominantemente saturada, por fontes lipídicas provenientes dos produtos da Castanha-do-Brasil. Associado a isto, comparou-se os resultados dos animais submetidos as dietas Hipercalóricas e a Normocalóricas.

3.2.1 Consumo alimentar e ganho de peso na segunda fase

No que se refere ao consumo alimentar na segunda fase (Tabela 3.17), houve diminuição significativa de consumo total de todos os grupos hipercalóricos em relação a dieta Controle, sendo que dos alimentados com as dietas experimentais, os que consumiram dieta Farinha, foram os que tiveram menor ingestão, redução de 10,05 %.

O ganho de peso, embora não tenha apontado diferença significativa em relação a Controle, indicou diferença entre os tratamentos. Os resultados estão em concordância com os achados de Duarte *et al.* (2006), que em estudo com ratos *Wistar* durante 15 semanas evidenciou que a dieta hiperlipídica promoveu maior ganho de peso que a dieta padrão.

Tabela 3.17 - Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de ratos submetidos as dietas experimentais na segunda fase

Dieta	Consumo Total (gramas)	Ganho de Peso (gramas)	Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA) (%)
Controle	797,45±32,14 ^{ac}	116,36±6,20 ^a	15,05±2,67 ^a
Hipercalórica	705,81±37,91 ^b *	124,10±18,09 ^{ac} ns	16,52±1,16 ^{ab} *
Hipercalórica Farinha	717,31±27,04 ^b *	129,01±11,37 ^{ac} ns	18,01±1,70 ^b *
Hipercalórica Óleo	729,84±27,97 ^b *	135,30±8,28 ^{bc} ns	18,53±0,75 ^b *
Hipercalórica Amêndoa	752,42±26,87 ^{bc} *	133,32±6,23 ^{ac} ns	17,74±1,15 ^b *
Média Geral	740,56	127,62	17,17
CV (%)	5,88	9,66	9,82

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnet ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os valores correspondem à média de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV: coeficiente de variação.

Quanto ao coeficiente de eficácia alimentar (Tabela 3.17), observou-se aumento significativo deste índice tanto para os animais alimentados com as dietas experimentais Hipercalóricas, como para os alimentados com a dieta Hipercalórica. Este resultado mostra que embora o menor consumo total por parte dos alimentados com dietas Hipercalóricas, o coeficiente de eficácia alimentar mostrou-se aumentado para estes grupos, o que pode ser reflexo do maior aporte energético proporcionado, mesmo com o consumo diário menor em relação à dieta Controle.

As considerações do parágrafo anterior são reafirmadas, visto que o consumo calórico observado na segunda fase (Tabela 3.18) sugere que a qualidade nutricional das dietas experimentais, de modo geral foi benéfica, pois proporcionaram ganho de peso e consumo total equitativo entre os animais submetidos aos diferentes tratamentos experimentais. Mas deve-se ressaltar que nesta fase o menor consumo calórico se deu por parte dos animais alimentados com a dieta Hipercalórica (72,93 Kcal/dia), enquanto o maior

consumo foi dos animais alimentados com a dieta Hipercalórica Amêndoa (77,77 Kcal/dia).

Tabela 3.18 - Consumo diário total em função de macronutrientes ingeridos nas diferentes dietas na segunda fase experimental

Dieta	Consumo		Consumo Diário de Nutrientes*					
	Diário Total (g)	Kcal Diária	Lipídeos		Proteína		Carboidratos	
			(g)	Kcal	(g)	Kcal	(g)	Kcal
Controle	18,99±0,76 ^{ac}	74,05	1,37	12,33	2,34	9,36	13,09	52,36
Hipercalórica	16,80±0,90 ^b *	72,93	2,53	22,77	2,04	8,16	10,50	42,00
Hipercalórica Farinha	17,08±0,64 ^b *	73,40	2,60	23,40	2,09	8,36	10,41	41,64
Hipercalórica Óleo	17,38±0,67 ^b *	76,06	2,74	24,66	2,10	8,40	10,75	43,00
Hipercalórica Amêndoa	18,16±1,06 ^{bc} ns	77,77	2,73	24,57	2,23	8,92	11,07	44,28
Média Geral	17,68	74,84						
CV (%)	6,29	2,70						

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnet ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os valores correspondem à média de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV: coeficiente de variação.

Os animais alimentados com as dietas Hipercalórica, Hipercalórica Farinha e Hipercalórica Óleo apresentaram redução significativa de consumo diário, enquanto os alimentados com a dieta Hipercalórica Amêndoa, mantiveram os níveis de consumo, quando em comparação com a dieta Controle, o que refletiu diretamente no aporte energético. O que pôde-se observar, é que para as dietas experimentais e dieta Hipercalórica, o quantitativo energético médio de lipídeos foi em média de 23,85 Kcal, enquanto para a dieta Controle o consumo calórico em lipídeos foi de 12,33 kcal. No entanto, esta diferença não impactou de forma negativa no ganho de peso e no coeficiente de eficácia alimentar. Os resultados encontrados estão em concordância com os achados de St-Onge (2005), que atribuem ao consumo de nozes, o aumento da saciedade, em função da alta quantidade de energia; a

exemplo do observado para as dietas Hipercalóricas, ou por outra, dietas hiperlipídicas.

3.2.2 Massa de órgãos e relação do peso do fígado e rins pelo peso corporal na segunda fase

Pode-se observar que os pesos do coração e dos rins não apresentaram diferença significativa em relação aos alimentados com a dieta Controle, enquanto o peso do fígado apresentou aumento significativo para os animais alimentados com a dieta Hipercalórica Amêndoa (20 %).

Tabela 3.19 - Massa do fígado, rins e relação hepatossomática e dos rins dos animais alimentados com as diferentes dietas experimentais na segunda fase.

Dieta	Peso do Fígado (gramas)		Peso do Coração (gramas)		Peso dos Rins (gramas)		Relação Peso do Fígado/Peso Final (%)		Relação Peso dos Rins/Peso Final (%)	
Controle	8,80±0,82 ^a		1,32±0,11 ^a		2,84±0,23 ^a		2,70±0,11 ^a		0,88±0,06 ^a	
Hipercalórica	8,96±0,34 ^a	ns	1,18±0,11 ^a	ns	2,70±0,20 ^a	ns	2,92±0,11 ^{ab}	*	0,88±0,08 ^a	ns
Hipercalórica Farinha	9,78±0,63 ^{ab}	ns	1,33±0,16 ^a	ns	2,42±0,21 ^a	ns	3,06±0,17 ^{bc}	*	0,75±0,08 ^a	ns
Hipercalórica Óleo	9,39±0,78 ^{ab}	ns	1,38±0,15 ^a	ns	2,88±0,26 ^a	ns	2,92±0,15 ^{ab}	*	0,90±0,07 ^a	ns
Hipercalórica Amêndoa	10,55±1,16 ^b	*	1,41±0,18 ^a	ns	2,88±0,49 ^a	ns	3,21±0,18 ^c	*	0,87±0,12 ^a	ns
Média Geral	9,50		1,32		2,74		2,96		0,86	
CV (%)	10,28		11,94		11,93		7,42		11,21	

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV= Coeficiente de Variação.

No tocante ao peso do fígado, observa-se que embora as demais dietas experimentais (Hipercalórica Farinha e Óleo) não tenham apresentado diferença significativa, como observado para os alimentados com a dieta Hipercalórica Amêndoa, também foi observado um aumento em relação aos alimentados com a dieta Controle. Este pode ter se dado em função da presença /acúmulo de gordura no fígado, observação que foi corroborada pela detecção histológica de gordura hepática nos animais alimentados com as

dietas experimentais e hipercalórica, o que de acordo com Leclercq *et al.* (1998) citado por Almeida *et al.* (2011), pode configurar uma esteatose hepática, o que consequentemente levaria a um aumento 5% do peso do fígado, quando da comparação com o valor de referência, no caso o fígado dos alimentados com a dieta Controle.

A relação do peso do fígado pelo peso final demonstrou que os animais alimentados com as dietas experimentais apresentaram maior relação, principalmente para os alimentados com as dietas Hipercalórica Farinha e Hipercalórica Amêndoa.

No que se refere a relação de peso dos rins/peso final (Tabela 3.19), observa-se que os valores para os animais com dietas experimentais e Hipercalórica não apresentaram diferença significativa em relação a Controle.

3.2.3 Avaliação bioquímica na segunda fase

O Colesterol Total (Tabela 3.20) apresentou aumento significativo para os animais alimentados com a dieta Hipercalórica, quando comparada com a dieta Controle. Enquanto as dietas experimentais, Hipercalóricas Óleo e Amêndoa, mostraram impacto positivo em relação a dieta Controle, com diminuição dos níveis desta variável. Segundo Moretto *et al.* (1998), o óleo de soja tem em sua composição 15 % de gordura saturada, enquanto na Castanha-do-Brasil segundo Robbins *et al.*, (2011), este valor é de 24,5 % e na gordura de suína 45 % (ALMEIDA *et al.* 2011), esta observação pode ter relação direta com resultados, visto que o quantitativo de gordura saturada na Castanha-do-Brasil é bem menor que o identificado na gordura suína.

Champe, Harvey e Ferrier (2000) afirmam que a gordura suína, quando consumida em quantidade moderada, não interfere na elevação da taxa de colesterol sérico; entretanto em seu trabalho, quando foi aumentado o nível de gordura suína de 7 % para 14 %, observou-se elevação da taxa do colesterol sérico. Esse fato segundo os autores pode ser consequência do excesso de ácidos graxos saturados, pois segundo os autores, o ácido láurico, mirístico e palmítico, considerados como os três principais ácidos graxos causadores de

hipercolesterolemia e promotores de aterosclerose, estão presentes na gordura suína (CHAMPE, HARVEY e FERRIER, 2000).

Por outro lado, ao que tudo indica a predominância de ácidos graxos polinsaturados nas dietas experimentais, pode ter sido o diferencial no resultado, pois o quantitativo destes ácidos graxos no óleo de Castanha-do-Brasil é em média de 74,49 % (SILVA; ASCHER E SOUZA, 2010) o que de acordo com Anderson (1994), pode levar a um efeito hipocolesterolêmico, principalmente quando da substituição da gordura saturada pela insaturada, como se pode observar na segunda fase experimental para os animais submetidos as dietas experimentais, embora os alimentados com dieta Hipercalórica Farinha tenham mantido os níveis de colesterol total.

Tabela 3.20 - Perfil lipídico de ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase.

Dieta	CT-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	LDL-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	HDL-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	VLDL-Colesterol (mg.dL ⁻¹)	Relação LDL/HDL- Colesterol
Controle	62,84±1,94 ^a	32,10±1,11 ^{ac}	19,57±2,38 ^{ab}	11,16±0,12 ^a	1,66±0,23 ^a
Hipercalórica	72,17±2,79 ^b *	37,33±1,36 ^b *	23,17±2,77 ^a ns	11,67±0,75 ^a ns	1,62±0,20 ^a ns
Hipercalórica Farinha	63,34±1,86 ^a ns	33,17±1,47 ^c ns	21,34±3,02 ^{ac} ns	8,84±0,75 ^b *	1,58±0,26 ^a ns
Hipercalórica Óleo	59,34±2,16 ^c *	32,74±0,43 ^{ac} ns	17,94±2,55 ^{bc} ns	8,67±1,03 ^b *	1,85±0,26 ^a ns
Hipercalórica Amêndoa	56,34±0,82 ^c *	30,50±2,43 ^a ns	16,84±1,94 ^b ns	9,00±1,09 ^b *	1,84±0,36 ^a ns
Média Geral	62,80	33,17	19,77	9,86	1,72
CV (%)	9,13	8,14	16,79	15,30	16,01

*. ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett (p≤0,05). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV= Coeficiente de Variação.

Os níveis de LDL-C (Tabela 3.20) embora tenham indicado diferença significativa em relação aos alimentados com dieta Controle, para as dietas experimentais, não houve diferença significativa, evidenciando que o quantitativo de ácidos graxos insaturados (29,83 %) e polinsaturados (44,96 %) contidos nas dietas experimentais, mostraram-se eficazes na manutenção dos níveis plasmáticos desta lipoproteína.

Cabe observar as considerações de Woollett, Spady e Dietschy (1992), que afirmaram que os ácidos graxos saturados, tem demonstrado aumentar as concentrações séricas de colesterol total, LDL-C. Por outro lado a substituição isoenergética destes ácidos por ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados da série w-6, tem mostrado efeitos opostos. No presente trabalho, na segunda fase experimental, a dieta Hipercalórica mostrou aumentar os níveis desta lipoproteína, em contrapartida, os alimentados com as dietas experimentais mostraram um comportamento positivo.

Os níveis de lipoproteínas de alta densidade HDL-C (Tabela 3.20), apontaram manutenção dos níveis para os alimentados com as dietas experimentais e dieta Hipercalórica. Estes resultados estão em concordância com os achados de De Bruin *et al.* (1991), pois segundo os autores a conservação do HDL-C é efeito dos ácidos graxos monoinsaturados, que estão presentes no óleo de Castanha-do-Brasil em estudo (29,83 %). Por outro lado, Nestel (1999) relata que ácidos graxos saturados tendem a aumentar os níveis de colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), o que embora não tenha configurado diferença significativa ocorreu com os alimentados com a dieta Hipercalórica e Hipercalórica Farinha.

De acordo com Águila *et al.* (2002), a relação LDL/HDL, pode ser um indicativo do risco para o desenvolvimento de doenças coronarianas, ou seja, quanto maior a concentração de LDL-colesterol, maior o risco, por outro lado, quanto mais elevada a concentração de HDL-colesterol, maior o efeito cardioprotetor. Desta forma se estabelece, que quanto menor esta relação, maior o efeito protetivo.

No presente estudo, tanto os animais alimentados com as dietas experimentais como com a dieta Hipercalórica, mantiveram a relação LDL/HDL, quando em comparação a dieta Controle, indicando que as dietas elaboradas com os produtos oriundos da Castanha-do-Brasil, podem exercer um efeito cardioprotetor.

Para o VLDL- C (Tabela 3.20) observou-se diminuição significativa dos níveis plasmáticos para os animais alimentados com as dietas Hipercalórica Farinha, Hipercalórica Óleo e Hipercalórica Amêndoa. Estes resultados estão em concordância com os achados de Howell *et al.* (1997), os quais afirmaram

que a gordura saturada sob as lipoproteínas ricas em triacilgliceróis tem demonstrado pouca influência, ou ainda que a qualidade de ácidos graxos mono e polinsaturados mostra maior efetividade na redução dos níveis desta lipoproteína.

Tabela 3.21 - Níveis séricos de triacilgliceróis, proteína e glicose sanguínea no soro de ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase.

Dieta	Triacilgliceróis (mg.dL⁻¹)	Glicose (mg.dL⁻¹)	Proteínas Totais (g.dL⁻¹)
Controle	55,80±0,61 ^a	105,00±4,27 ^{ab}	6,11±0,25 ^a
Hipercalórica	58,33±3,76 ^a ns	108,00±1,55 ^a ns	6,04±0,21 ^a ns
Hipercalórica Farinha	44,17±3,76 ^b *	103,17±1,17 ^b ns	6,05±0,19 ^a ns
Hipercalórica Óleo	43,34±5,16 ^b *	98,50±3,51 ^c *	6,28±0,21 ^a ns
Hipercalórica Amêndoa	45,00±5,47 ^b *	98,34±1,26 ^c *	6,28±0,34 ^a ns
Média Geral	49,33	102,67	6,15
CV (%)	15,30	4,48	4,18

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV= Coeficiente de Variação.

Os triacilgliceróis séricos (Tabela 3.21) apresentaram redução significativa para os animais alimentados com dieta Hipercalórica Farinha, Hipercalórica Amêndoa e Hipercalórica Óleo e manutenção dos níveis para os alimentados com a dieta Hipercalórica. Estes resultados concordam com as considerações feitas por Chen, Lii e Wang (1995), que apontaram que quando se compara o consumo de fontes lipídicas saturadas e polinsaturadas em modelos animais, os triacilgliceróis séricos têm redução significativa quando se trata de fonte polinsaturada.

Os níveis de glicose sanguínea (Tabela 3.21) indicaram diferença significativa, com diminuição dos níveis glicêmicos para os alimentados com as dietas Hipercalórica Óleo e Hipercalórica Amêndoa e manutenção dos valores para os alimentados com as dietas Hipercalórica e Hipercalórica Farinha, quando em comparação a Controle. Os resultados estão em discordância dos apresentados por Duarte *et al.* (2006), que no estudo com ratos durante 15 semanas indicaram não haver diferença estatística de valores observados para

esta variável, quando comparadas dietas Hiperlipídica e Controle; pois no presente estudo, todas as dietas experimentais eram hipercalóricas, ou por outra, hiperlipídicas, sendo que a qualidade lipídica das dietas experimentais, contendo ácidos graxos insaturados, se mostrou efetiva em manter e/ou diminuir a glicose sanguínea.

O conteúdo de proteínas séricas (Tabela 3.21) não apresentou diferença estatística, o que pode ser um indicativo de não haver implicações nutricionais negativas, hepatopatias, infecções, aumento de catabolismo ou inflamação no organismo dos animais (CUPPARI, 2005). Este resultado é corroborado pela semelhança de resultados observados para a albumina sérica (Tabela 3.23) dos animais submetidos aos diferentes tratamentos, mostrando um padrão de resposta orgânica, diminuindo assim a probabilidade de estabelecimento de relação direta de desenvolvimento de doenças hepáticas, inflamação ou infecção em função da alteração das proteínas plasmáticas e da albumina.

Tabela 3.22 - Concentração de selênio no plasma e no fígado de ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase

Dieta	Concentração				
	Selênio - Dieta ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Selênio - Plasma ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Selênio - Fígado ($\mu\text{g.g}^{-1}$)		
Controle	1,55±0,01	658,45±27,08	1,63±0,03		
Hipercalórica	1,43±0,01 ^{ab} *	537,47±19,57 ^c *	1,63±0,03 ^a	ns	
Hipercalórica Farinha	11,10±0,06 ^d *	1598,61±47,27 ^d *	8,18±0,23 ^c	*	
Hipercalórica Óleo	1,30±0,01 ^{bc} *	447,16±13,42 ^b *	1,57±0,01 ^a	ns	
Hipercalórica Amêndoa	12,22±0,06 ^e *	818,67±36,74 ^d *	4,27±0,16 ^b	*	

*, ^{ns} Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV= Coeficiente de Variação.

Para as dietas (Tabela 3.15), a concentração de selênio mostrou diferença significativa entre os tratamentos, com maiores valores observados para as elaboradas com amêndoa e farinha de castanha. A exemplo da primeira fase, o quantitativo de selênio no plasma (Tabela 3.22) dos animais tratados com as diferentes dietas, quando comparadas com a dieta Controle mostraram diferença significativa, com menor concentração para os alimentados com dietas Hipercalórica e Hipercalórica Óleo, e aumentada para os animais com dietas Hipercalórica Farinha e Hipercalórica Amêndoa. O

comportamento nesta fase, no que se refere a esta variável, foi similar ao observado na primeira fase experimental, com os níveis muito elevados para os alimentados com a dieta Hipercalórica Farinha e que refletem os níveis de selênio observados nas dietas experimentais.

De acordo com as observações realizadas por Zimmermann e Kohrle, (2002), a falta de selênio na dieta pode contribuir com o desenvolvimento de cardiopatias, hipotireoidismo e intervir de forma negativa no sistema imunitário; no presente estudo, nenhuma das dietas provocou diminuição expressiva destes níveis, embora os alimentados com as dietas Hipercalórica Óleo tenham apresentado a menor concentração plasmática.

Segundo Levander e Beck (1997), a deficiência, não causa a patologia, mas pode tornar o corpo mais suscetível a patologias nutricionais, bioquímicas ou infecciosas. No caso do presente estudo não foram observadas deficiências, sendo que os animais alimentados com a dieta Hipercalórica Farinha apresentaram níveis sanguíneos superiores a 1 mg.L^{-1} , o que pode indicar, de acordo com Fraga (2005) selenose no fígado.

Os resultados experimentais quando comparados aos observados por Uthus *et al.* (2002), os quais identificaram $588,25 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de selênio plasmático em ratos F344 (com padrão normal de selênio plasmático), mostraram similaridade para os animais submetidos a dieta Hipercalórica ($658,45 \pm 27,08 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), Controle ($537,47 \pm 19,57 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e Hipercalórica Óleo ($447,16 \pm 13,42 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$). No entanto, embora não haja no referido trabalho padrão de comparação para os níveis plasmáticos observados para os alimentados com as dietas Hipercalórica Farinha ($1598,61 \pm 47,27 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e Hipercalórica Amêndoa ($918,67 \pm 36,74 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$), pode-se afirmar que as concentrações observadas foram bastante elevadas. As concentrações observadas, para os animais com as dietas Hipercalórica Farinha e Hipercalórica Amêndoa no presente estudo, se mostraram menores que as identificadas por Sales (2007) que em estudo com ratos Fischer, alimentados por 11 semanas com dieta Contendo Castanha-do-Brasil encontraram $2076,83 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de selênio plasmático.

A concentração de selênio no fígado (Tabela 3.22) apresentou diferença significativa, com valores significativamente elevados para os alimentados com as dietas Hipercalórica Farinha e Amêndoa em relação dieta Controle, sendo que os animais alimentados com dieta Hipercalórica e Hipercalórica Óleo apresentaram manutenção dos valores observados.

Os resultados apontaram que as dietas Hipercalórica Farinha e Hipercalórica Amêndoa promoveram o incremento na concentração de selênio no plasma e no fígado dos animais submetidos a estas dietas, estando em concordância com o estudo realizado por Chunhieng *et.al.* (2004), que afirmam que as proteínas presentes na castanha como as albuminas, contêm quantitativo apreciável de selênio, e que quando na dieta, proporcionam absorção e transporte deste micronutriente aos tecidos, a exemplo do tecido hepático.

3.2.4 Testes de função hepática na segunda fase

Os indicadores de função hepática apresentados na tabela 3.23, para a bilirrubina direta (BD) e albumina sérica (Alb), não apresentaram diferença significativa em relação a dieta Controle. No entanto a bilirrubina indireta (BI) apresentou diferença estatística, com diminuição dos níveis para os animais alimentados com a dieta Hipercalórica e Hipercalórica Óleo, enquanto os animais com as dietas experimentais Hipercalórica Farinha e Hipercalórica Amêndoa, mantiveram os níveis quando em comparação a Controle.

Os resultados para Alanina aminotransferase (ALT), demonstraram diferença significativa, com aumento deste indicador de função hepática para os animais alimentados com dieta Hipercalórica e Hipercalórica Farinha em relação a dieta Controle e manutenção para os alimentados com as dietas Hipercalórica Óleo e Amêndoa. No caso dos submetidos as dietas Hipercalórica e Hipercalórica Farinha, cabe observar a afirmação de Ockner (1993), que refere a elevação dos níveis de ALT como sendo relativamente peculiar a patologia hepatobiliar.

Quanto à aspartato aminotransferase (AST), houve um aumento significativo deste indicador para os alimentados com as dietas Hipercalórica

Farinha e Hipercalórica Amêndoa, o que de acordo com Ockner, (1993) apesar desta prova de função hepática mostrar-se aumentada em patologias que impliquem outros órgãos, valores superiores a 10 vezes o limite superior de variação normal refletem normalmente uma patologia hepática ou biliar.

Tabela 3.23 - Concentração de indicadores de função hepática no soro dos ratos alimentados com as diferentes dietas na segunda fase.

Dieta	BD (mg.dL ⁻¹)	BI (mg.dL ⁻¹)	ALT (UL ⁻¹)	AST (UL ⁻¹)	FA (UL ⁻¹)	ALB (g.dL ⁻¹)	Relação AST/ALT
Controle	0,06 ±0,01 ^a	0,04 ±0,01 ^a	30,67 ±3,33 ^a	165,17 ±8,20 ^a	114,33 ±5,71 ^a	3,11 ±0,05 ^a	5,42 ±0,53 ^a
Hipercalórica	0,06 ±0,01 ^a ns	0,03 ±0,01 ^b *	35,17 ±4,67 ^{ab} *	157,17 ±5,23 ^a ns	115,33 ±11,70 ^a ns	3,03 ±0,25 ^a ns	4,54 ±0,67 ^b *
Hipercalórica Farinha	0,06 ±0,01 ^a ns	0,05 ±0,01 ^a ns	39,00 ±1,79 ^b *	209,67 ±9,50 ^b *	116,67 ±10,13 ^{ac} ns	3,14 ±0,09 ^a ns	5,39 ±0,47 ^a ns
Hipercalórica Óleo	0,06 ±0,01 ^a ns	0,03 ±0,01 ^b *	33,67 ±2,06 ^{ac} ns	168,83 ±5,30 ^a ns	140,50 ±2,74 ^b *	3,02 ±0,27 ^a ns	5,02 ±0,23 ^{ab} ns
Hipercalórica Amêndoa	0,06 ±0,01 ^a ns	0,04 ±0,01 ^a ns	32,67 ±1,50 ^{ac} ns	188,83 ±12,34 ^c *	130,50 ±8,22 ^{bc} *	3,25 ±0,17 ^a ns	5,78 ±0,26 ^a ns
Média Geral	0,06	0,04	34,24	177,94	123,47	3,11	5,23
CV (%)	+12,83	21,08	11,47	11,73	10,58	6,19	11,61

*, ns Significativo e não significativo em relação a Controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). Médias na mesma coluna que possuem letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições com estimativa de desvio padrão. CV: Coeficiente de variação. Bilirrubina direta (BD), bilirrubina indireta (BI), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e albumina sérica (Alb).

Um dano hepático, seja agudo ou crônico, ocasionalmente resultará em um aumento da atividade sérica das aminotransferases. A ALT e a AST, são enzimas intracelulares presentes em grandes quantidades no citoplasma dos hepatócitos, e a primeira é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito, enquanto 80% da AST estão presentes na mitocôndria (AL-HABORI *et al*, 2002). Essa diferença tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas.

A relação AST/ALT apresentou diferença estatística, com valores inferiores para os alimentados com a dieta Hipercalórica, e similaridade de resultados para os com dietas experimentais em relação a dieta Controle. Em

dano hepatocelular leve a forma predominante no soro é a citoplasmática, enquanto que em lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT (MOTTA, 2003). Nesta etapa, os alimentados com dieta Hipercalórica apresentaram diminuição significativa, como níveis variando de $4,54 \pm 0,67$ a $5,78 \pm 0,26$, o que pode sugerir esteatose hepática, embora esteja em concordância com Moreira *et al.*(2011), que encontraram valores semelhantes para esta relação no que se refere a dieta Controle.

A fosfatase alcalina (FA) apresentou incremento significativo para os animais com dieta Hipercalórica Óleo e Hipercalórica Amêndoa e manutenção de valores para os alimentados com as dietas, Hipercalórica e Hipercalórica Farinha.

A exemplo da AST e ALT, a FA também é um marcador de atividades inflamatórias e intoxicação química, e quando há variação destes parâmetros, pode ser um indicativo de disfunção hepática, principalmente quando da alteração da ALT (BHALLA *et al.*, 2006). Neste caso, em virtude dos resultados observados para as dietas experimentais, depreende-se que os testes de função hepática mostraram alterações isoladas, que podem ser um indicativo de disfunção hepática.

3.2.5 Avaliação anatomo-histológica na segunda fase

Macroscopicamente não houveram alterações no coração, rins e fígado. A microscopia eletrônica do fígado (Figuras 3.7 a 3.11) revelou que os ratos alimentados com as dietas experimentais e hipercalórica na segunda fase, apresentaram discreta vacuolização intracitoplasmática com padrão microvesicular nos hepatócitos adjacentes a veia centrolobular.

De acordo com as observações realizadas, evidenciou-se que a qualidade de gordura utilizada na elaboração das dietas experimentais, não mostrou efetividade. Pois tanto os animais alimentados com dieta Hipercalórica, com fonte lipídica predominante de gordura saturada, como os animais com as dietas experimentais hipercalóricas com quantitativo expressivo de ácidos graxos insaturados, mostraram alterações nos hepatócitos, quando em comparação com a dieta Controle.

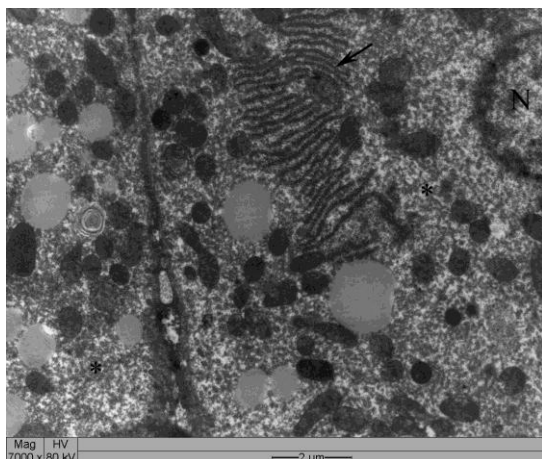


Figura 3.7. Fígado de animais alimentados com dieta Controle. Hepatócito. Núcleo (N), retículo endoplasmático rugoso (seta preta), retículo endoplasmático liso (*).

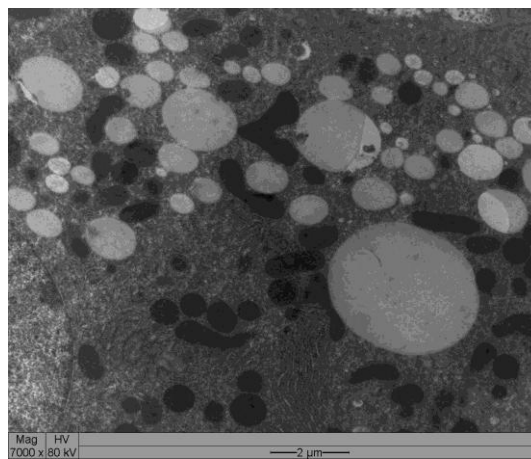


Figura 3.8. Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica. Hepatócito apresentando acentuado aumento das gotículas de gordura.

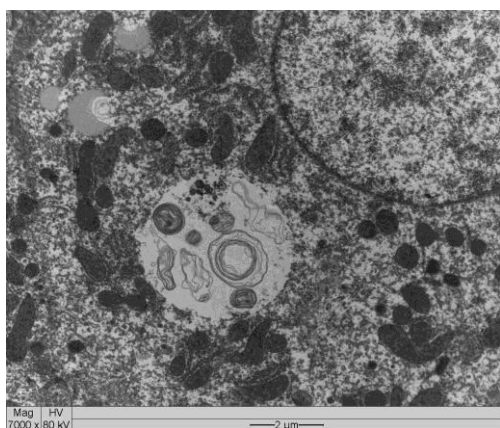


Figura 3.9. Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica Farinha. Hepatócito com gotículas de gordura, discreta proliferação de REL (retículo endoplasmático liso) e presença de corpos residuais.

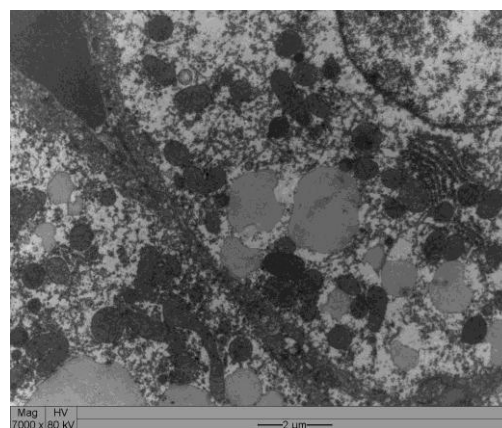


Figura 3.10. Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica Óleo. Hepatócito apresentando aumento de gotículas de gordura e discreta proliferação de REL.

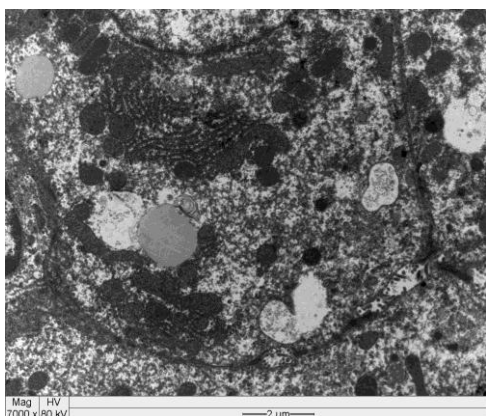


Figura 3.11. Fígado de animais alimentados com dieta Hipercalórica Amêndoa. Hepatócito apresentando aumento gotículas de gordura e discreta proliferação de REL.

Ao que tudo indica, pode ter havido uma disfunção hepática causada pelos ácidos graxos, ou seja, toxicidade hepática, o que conseqüentemente promoveria o desenvolvimento de esteatose hepática. (JAEKEL, 2008).

Os resultados encontrados estão de acordo com as considerações de Flatt (1995), o qual afirma que a gordura como substrato energético oferece 9 kcal.g⁻¹ de energia, e que quando não utilizada como fonte calórica para a realização de atividades, pode acumular-se como triacilgliceróis nos tecidos.

É importante considerar que a presença de ácidos graxos polinsaturados nas dietas experimentais, não levou a diminuição dos níveis de lipídeos hepáticos, o que, por conseguinte, pode ter contribuído com o aumento de lipídeos nos hepatócitos. Esta constatação, concorda com os achados de Tandy *et al.*(2009), os quais observaram um aumento do nível de lipídeos no fígado de ratos alimentados por 12 semanas com uma dieta contendo um teor elevado de gordura (35 % de banha).

Cabe considerar que as hepatopatias podem ter impacto no “metabolismo de macronutrientes”, no caso das proteínas: (I) comprometendo síntese de proteínas hepáticas, (II) proteínas plasmáticas, (III) detoxicação de amônia insuficiente inclusive com perda de proteína intestinal dietética, podendo induzir a desnutrição proteica. Nos carboidratos, (I) hipoglicemia (hepatopatia aguda), (II) hiperglicemia (hepatopatia crônica); e nos lipídeos (I) aumento da lipogênese hepática, da lipólise periférica e da oxidação periférica de ácidos graxos, (II) diminuição de oxidação hepática de ácidos graxos, síntese de LDL, e da gliconeogênese hepática, com conseqüente esteatose hepática, e/ou hiperlipidemia e Cetose. Pode haver impacto das hepatopatias no “metabolismo de micronutrientes”, no caso de hepatopatia aguda, pela falta principalmente das vitaminas A, C, tiamina e ácido ascórbico e na hepatopatia crônica, principalmente das vitaminas K, B12 e ácido fólico. (CUPPARI, 2002).

Estas considerações levam a acreditar que a presença de gordura hepática observada nos hepatócitos dos animais alimentados com as dietas experimentais, merecem uma análise mais aprofundada, visto que a partir das alterações fisiológicas e bioquímicas identificadas, pode ter se estabelecido uma disfunção, com conseqüente lesão do parênquima hepático, o que pode

em situação mais grave, levar a perda de capacidade funcional dos hepatócitos.

4.0 CONCLUSÃO

A utilização de produtos de Castanha-do-Brasil, farinha, óleo e amêndoa, como constituintes de dietas normocalóricas, demonstrou efetividade quanto à manutenção dos níveis de colesterol total e proteínas totais, e na redução dos níveis de VLDL e triacilgliceróis. No entanto a utilização destes produtos promoveram aumento dos níveis de LDL-C para os animais alimentados com dietas Farinha e Amêndoa e diminuição do HDL-C para os alimentados com a dieta Farinha. Embora tenham sido observadas alterações isoladas de provas de função hepática, as análises histológicas apontaram alterações nos hepatócitos dos animais submetidos às diferentes dietas experimentais, indicando aumento de gordura hepática nos alimentados com as diferentes dietas, quando em comparação a Controle.

O uso de produtos oriundos da Castanha-do-Brasil, farinha, óleo e amêndoa, em formulações dietéticas hipercalóricas, disponibilizadas para animais com histórico de ingestão de dieta hipercalórica, com fonte de gordura saturada, mantiveram os padrões de normalidade das concentrações séricas de LDL-C, HDL-C e proteínas séricas, e diminuição da glicose sanguínea dos animais alimentados com as dietas Hipercalórica Óleo e Hipercalórica Amêndoa e aumento no teor de colesterol total para os animais alimentados com a dieta Hipercalórica. As VLDL-C e os triacilgliceróis apresentaram redução significativa para os alimentados com as dietas experimentais em relação a dieta Controle.

Ainda na segunda fase, observou-se aumento de gordura hepática, nos animais submetidos às diferentes dietas e este resultado quando comparado às observações dos parâmetros bioquímicos e provas de função hepática, pode indicar que os lipídeos presentes no citoplasma das células representaram uma potencial fonte de energia orgânica, não sendo descartada a predisposição ao desenvolvimento de esteatose hepática.

O quantitativo de selênio no plasma dos animais alimentados com dieta contendo farinha nas duas fases experimentais apresentou-se acima dos níveis adequados, o que pode ser um indicativo de selenose.

Assim, pode-se concluir que este estudo confirma a potencialidade da utilização de produtos de Castanha-do-Brasil como suplemento alimentar, desde que de forma equilibrada. Os resultados indicam que não há como afirmar que a presença do selênio tenha sido o fator determinante para o impacto observado sob os parâmetros bioquímicos analisados.

No entanto os resultados apontam que os produtos da Castanha-do-Brasil provenientes da cidade de Laranjal do Jari, estado do Amapá, podem ser considerados suplementos alimentares a serem utilizado na prevenção de doenças cardiovasculares.

5.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.), oriunda da cidade de Laranjal do Jari, Amapá, quando da caracterização físico-química apresentou qualidade em macro e micronutrientes. Alimento rico em energia, lipídeos e selênio. Os ácidos graxos insaturados majoritários foram o oléico e linoléico, os saturados, o palmítico e o esteárico. Quantidades apreciáveis de compostos bioativos como tocoferóis, fenóis totais e β -caroteno foram identificados.

A concentração de selênio presente na amêndoa e farinha da castanha foi muito expressiva, indicando que o consumo do equivalente a uma castanha está abaixo do Limite Superior Tolerável de Ingestão (UL), que é de 400 $\mu\text{g}/\text{dia}$.

A utilização biológica de produtos da Castanha-do-Brasil mostrou eficiência, quando da utilização em dietas normo e hipercalóricas.

Quanto às avaliações bioquímicas, as dietas experimentais promoveram efetiva ação sobre as VLDL-C, triacilgliceróis, glicose sanguínea, proteínas e albuminas séricas, independente da qualidade e quantidade de lipídeos dietéticos. A utilização de produtos de castanha em dietas hipercalóricas promoveu manutenção dos níveis de LDL-C e HDL-C.

O fígado dos animais alimentados com as dietas experimentais apresentaram quantidade expressiva de lipídeos nos hepatócitos, sugerindo esteatose hepática.

De modo geral foram identificados nos produtos da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) oriunda de Laranjal do Jari, Amapá, compostos com atividade biológica, indicando viabilidade de uso como alimento funcional e na prevenção de doenças cardiovasculares.

REFERÊNCIAS

- AGUILA MB, LOUREIRO CC, MANDARIM-DE-LACERDA CA. Lipid metabolism in rats fed diets containing different types of lipids. **Arq. Bras. Cardiol.** 78: 25-38, 2002.
- AL-HABORI, M.; AL-AGHBARI, A.; AL-MAMARY, M.; BAKER, M. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. **Ethno-Pharmacology**, v. 83, p. 209-217, 2002.
- ALMEIDA, M. E. F.; QUEIROZ, J.H.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). **Rev. Nutr.**, Campinas, 24, n.1, p.143-152, jan./fev., 2011.
- ANDERSON, J.W.; JONES, A.E.; RIDDELL-MASON, S. Tem different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. **Journal of Nutrition**. v. 124, n. 1, p. 78-83, 1994.
- ANGELUCCI, E.; MANTOVANI, D.M.B. **Minerais em Alimentos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1986, 131p.
- ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas Embalados. **Diário Oficial da União**, 26 dez., 2003.
- AOAC INTERNATIONAL. *Official methods of analysis*. 16^a ed., 3^a rev. Gaithersburg: Published by AOAC International. v.2, cap. 32, p.1-43, 1997.
- BARCLAY, M. N. I.; MACPHERSON, A.; DIXON, J. Selenium content of a range of UK foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 6, n. 4, p. 307-318, 1995.
- BERNO, L.I.; POETA, P.T.; MARÓSTICA JUNIOR, M.R. Efeitos do Selênio Oriundo da Torta de Castanha-do-Brasil Sobre a Concentração de Glutathione Reduzida (GSH) Em Ratos Wistar. **Alim. Nutr.**, Araraquara. v. 21, n. 2, p. 231-239, abr./jun. 2010.
- BHALLA, A.; SURI, V.; SINGH, V. Malarial Hepatopathy. **Journal postgrad Med**, v. 52, n. 4, p. 315-20, 2006.
- BUTLER D. UN targets top killers. International summit considers how to stem the rise in non-communicable diseases. **Nature**. v.477, p. 260-1, 2011.
- CABALLERO-CÓRDOBA, G. M.; SGARBIERI, V. C. Nutritional and toxicological evaluation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass and yeast protein concentrate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 80, n. 3, p. 341-351, 2000.

CAMARGO, L. A. A. **Estudo químico–bromatológico das castanhas da *Bertholletia excelsa*, H. B. K.** 1986. 43 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual de São Paulo, Araraquara, 1986.

CASAS-AGUSTENCH, P.; LÓPEZ-URIARTE, P.; BULLÓ, M.; ROS, E.; CABRÉ-VILA, J. J.; SALAS-SALVADÓ, J. Effects of one served of mixed on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Disease, Milano**, v. 21, n. 2, p. 126-135, 2009. In: FERNANDES, D.C. **Efeito da Amêndoa de Baru, Amendoim e Castanha-do-Pará no Perfil Sérico e na Peroxidação de Lipídios em Ratos com Dieta Hiperlipídica.** 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2011.

CASTRO, R. V. de **Efeitos quimioterápicos do selênio no câncer da mama.** Disponível em: <<http://www.correionet.com.br/~rvcastro>, > Acesso em: 12 ago. 2000 In: MENEZES, T. J. B. A Castanha-do-Pará na indústria de alimentos. **Boletim do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos.** v. 24. n. 1, Campinas jan.-mar. 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D.R. **Bioquímica ilustrada.** 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 544 p.

CHEN, H.W., LII C.K., OU C.C., WANG, M.L. Dietary fat and vitamin E have differential effects on serum lipid levels. **Nutr Res.** 15(9):1367-76. doi:10.1016/0271-5317(95)02011-J. 1995.

CHUNHIENG, T. *et al.* Study of selenium distribution in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. **J. Agric.Food Chem.**, 52: 4318-4322, 2004.

CHUNHIENG,T.; HAFIDI, A.; PIOCH, D.; BROCHIER, J.; MONTET, D. Detailed Study of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) Oil Micro-Compounds: Phospholipids, Tocopherols and Sterols. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 19, n. 7, 1374-1380, 2008.

CUPPARI, L. **Guias de medicina Ambulatorial e Hospitalar UNIFESP-Escola Paulista de Medicina: Nutrição clínica no adulto.** 1.ed. Barueri: Manole, 2002. 490p.

CUPPARI, L. **Guias de medicina Ambulatorial e Hospitalar UNIFESP-Escola Paulista de Medicina: Nutrição clínica no adulto.** 2.ed. Barueri: Manole, 2005. 490p.

DE BRUIN, T.W.; BROUWER, C.B.; GIMPEL, J.A.; ERKELENS, D.W. Postprandial decrease in HDL cholesterol and HDL apo A-I in normal subjects in relation to triglyceride metabolism. **American Journal Physiology**, v. 260, n. 3, p. E492-E498, 1 mar. 1991.

DUARTE, A.C.G.O.; FONSECA, D.F.; MANZONI, M.S.J.; SOAVE, C.F.; FIORESE, M.S.; DÂMASO, A.R.; CHEIK, N.C. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 341-348, mai./jun., 2006.

FERNANDES, D.C. **Efeito da Amêndoa de Baru, Amendoim e Castanha-do-Pará no Perfil Sérico e na Peroxidação de Lipídios em Ratos com Dieta Hiperlipídica**. 2011. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2011.

FERREIRA E. S. **Estudo físico-químico do fruto e do óleo de frutos Nativos da amazônia: Castanha-do-Brasil (*bertholletia excelsa* H.B.K.) e tucumã (*astrocaryum vulgare* mart.)**. 2005. 65 f. Monografia - Faculdade SEAMA, Amapá. 2005

FIETZ, V. R.; SALGADO, J. M. Efeito da Pectina e da Celulose nos Níveis Séricos de Colesterol e Triacilgliceróis em Ratos Hiperlipidêmicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n. 3. Sept./Dec. 1999.

FINLEY, J. W., DAVIS, C.D; FENG, Y. Selenium from High Selenium Broccoli Protects Rats from Colon Cancer. **Journal Nutrition**, v.130, n. 9, p. 2384-2389. 1 sept. 2000.

FLATT J.P. Use and storage of carbohydrate and fat. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 61, p. 952S-959S. Abr. 1995.

FRAGA, C.G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 235-244, 2005.

FRIEDWALD, W.T.;LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**. v.18, p.499-502, 1972.

GIULIANO, I. C.B.; COUTINHO, M.S.S.A.; FREITAS, S.F.T.; PIRES, M.M.S.; ZUNINO, J.N.; RIBEIRO, R.Q.C. Lípidos Séricos em Crianças e Adolescentes de Florianópolis, SC – Estudo Floripa Saudável 2040. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 85, n. 2, p. 85 – 91, ago. 2005.

HANSSON, G.K. Inflammation, Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. **N Engl J Med**, v. 352, p. 1685–1695, 21 abr. 2005.

HOWELL, W.H.; MCNAMARA, D.J.; TOSCA, M.A.; SMITH, B.T.; GAINES, J.A. Plasma lipid and lipoprotein responses to dietary fat and cholesterol: a meta-analysis. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 65, n. 6, p. 1747-1764, jun. 1997.

IKEMOTO, S.; TAKAHASH, M.; TSUNODA, N.; MARUYAMA, K.; ITAKURA, H.; EZAKI, O. High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: Differential effects of dietary oils. **Metabolism**, v. 45, n. 12, p. 1539-1546, 1996.

INARRITU, M. C.; FRANCO, L. V. Las barras de cereales como alimento funcional en los niños. **Revista Mexicana de Pediatría**, v. 68, n. 1, p. 8-12, 2001. In: SANTOS, O.V.; LOPES, A.S.; AZEVEDO, G. O.; SANTOS, A. C. Processing of Brazil-nut flour: characterization, thermal and morphological analysis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, p. 264-269, mai. 2010

JAEKEL, L. Z. **Bebida Funcional com Extratos de Soja e de Arroz e sua Influência no Colesterol e Glicemia**. 2008. 102 f. Dissertação(Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

JENKINS, D. J.; KENDALL, C. W.; MARCHIE, A.; PARKER, T. L.; CONNELLY, P. W.; QIAN, W.; HAIGHT, J. S.; FAULKNER, D.; VIDGEN, E.; LAPSLEY, K. G. SPILLER, G. A. Dose response of almonds on coronary heart disease risk factors: blood lipids, oxidized low-density lipoproteins, lipoprotein(a), homocysteine, and pulmonary nitric oxide: a randomized, controlled, crossover trial. **Circulation**, v. 106, p. 1327-1332, 2002.

KIRKMEYER, S.V.; MATTES, R.D. Effects of food attributes o hunger and food intake. **International Journal of Obesity**, v. 24, p. 1167–1175, 2000. In: Ros, E., Mataix, J. Fatty acid composition of nuts–implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 2, p. S29-S35, 2006.

LABTEST. **Diagnóstica Labtest**- Sistemas para diagnóstico. Belo Horizonte: Labtest. 1999.

LACLAUSTRA, M.; STRANGES, S.; NAVAS-ACIEN, A.; ORDOVAS, J.M.; GUALLAR, E. Serum selenium and serum lipids in US adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003–2004. **Atherosclerosis**, v. 210, p. 643–648, 2010.

LECLERCQ, I.; HORMANS, Y.; DESAGER, J.P.; DELZENNE, N.; GEUBEL, A.P. Reduction in hepatic cytochrome P-450 is correlated to the degree of liver fat content in animal models of steatosis in the absence of inflammation. **J Hepatol.** , v.28, n.3, p.410-6, 1998. In: ALMEIDA, M. E. F.; QUEIROZ, J.H.; COSTA, N. M. B.; MATTÁ, S. L. P. Lipídeos séricos e morfologia hepática de ratos alimentados com diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, gordura de peixe e porco, margarina e manteiga). **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 143-152, jan.-fev., 2011.

LEVANDER, O. A.; BECK, M. A. Interacting nutritional and infectious etiologies of Keshan disease. Insights from coxsackie virus B-induced myocarditis in mice deficient in selenium or vitamin E. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 56, p. 5–21, 1997.

MARANHÃO, P. A.; KRAEMER-AGUIAR, L. G.; OLIVEIRA, C. L.; KUSCHNIR, M. C. C.; VIEIRA, Y. R.; SOUZA, M. G. C.; KOURY, J. C.; BOUSKELA, E. Brazil nuts intake improves lipid profile, oxidative stress and microvascular function in obese adolescents:a randomized controlled trial. **Nutrition e Metabolism**, v. 8, n. 1, 32 p. 2011.

MATTES, R. D.; DREHER, M. L. Nuts and healthy body weight maintenance mechanisms. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 137-141. 2010.

MENEZES, H.C.; SOUZA, M. L. Extrusão de misturas de castanha do Brasil com mandioca. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 451-462, abr.-jun., 2008.

MENEZES, H.C.; SOUZA, M. L. Processamentos de amêndoa e torta de Castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 120-128, jan.-mar. 2004.

MOREIRA, L. M., ROCHA, A.S.R.; RIBEIRO, C.L. G.; RODRIGUES, R. S.; SOARES, L. A. S. Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Spirulina platensis*. **African Journal of Food Science** .v.5, n.15, p. 799-805, dez., 2011.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos**, São Paulo: Varela, 1998. 150 p.

MOTTA V. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: princípios e interpretações**. 4.ed. São Paulo: Robe, 2003.

NESTEL, P. Saturated and trans fatty acids and coronary heart disease. **European Heart Journal Supplements**, v. 1, p. S19-S23, 1999.

OBICI, S.; FENG, Z.; MORGAN, K; STEIN, D.; KARKANIAS, G.; ROSSETI, L. Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. **Diabetes**. v. 51, n.2, p.271-275, fev, 2002.

OCKNER, R. K. Doenças do Fígado, da Vesícula Biliar e dos Ductos Biliares. In: Wyngaarden J B. **Tratado de Medicina Interna** .19 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1993. v.1, 1214p. In: OLIVEIRA, T.T. ; NAGEM T.J.; RIBEIRO, J.N. Análise sérica das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e gama glutamiltranspeptidase de coelhos adultos tratados com extrato bruto de própolis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 26, n. 1, p. 25-28, 2005.

PIRES, L.V. **Efeito da Suplementação com Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) na expressão gênica de citocinas inflamatórias e sua relação com o estresse oxidativo em pacientes com diabetes mellitus tipo 1**. 2012. 130 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **The Lancet.**, v. 356, n. 9225, p. 233–241, 2000.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR., G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc. Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet . **Journal of Nutrition.**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

ROBBINS, K. S.; SHIN, E.C; SHEWFELT, R. L.; EITENMILLER, R.R.; PEGG, R. B. Update on the Healthful Lipid Constituents of Commercially Important Tree Nuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 12083–12092. 2011.

SALES, N.S. **Biodisponibilidade de Selênio em Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e Castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*) e Seu Potencial Anticarcinogênico na Mucosa do Cólon de Ratos**. 2007. 116 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.

SANTOS, J.C.A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; BARROS, C.S.L., Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e eqüinos no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 1-14 , 2008.

SANTOS, R.D.; GAGLIARDI, A.C.M.; XAVIER, H.T.; MAGNONI, C.D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A.M. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol.**, v. 100, n. 1, p. 1-40, 2013.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9.ed. São Paulo: Manole, v. 1, 2003. 2106 p.

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R.; SOUZA, J. M. L. Influência do processo de beneficiamento na qualidade de amêndoas de Castanha-do-Brasil. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 445-450, mar.-abr., 2010.

SIMÃO, A.F.; PRECOMA, D.B.; ANDRADE, JP.; *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia I Diretriz Brasileira de Prevenção Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, n. 6, supl. 2, p. 1-63, 2013.

SOUZA, J.M. L.; SILVA, R. F.; LEITE, F. M. N.; REIS, F..S. Castanha do Brasil Despeliculada e Salgada. **Coleção Agroindústria Familiar**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2009. 37 p.

SPOSITO, A. C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F. A. H.; BERTOLAMI, M. C. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, 2007, v.88, supl. 1, 19 p.

ST-ONGE, M.P. Dietary fats, teas, dairy, and nuts: potential functional foods for weight control? **American Journal Clinical Nutrition**, v. 81, p. 7-15, 2005.

STRUNZ, C. C.; OLIVEIRA, T. V.; VINAGRE, J. C. M.; LIMA, A.; COZZOLINO, S.; MARANHÃO, R. C. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoprotein, and high-density lipoprotein function in human subjects. **Nutrition Research**, v. 28, n. 3, p.151-155, 2008.

SUZUKI, Y.; HASHIURA, Y.; MATSUMURA, K.; MATSUKAWA, T.; SHINOHARA, A.; FURUTA, N. Dynamic pathways of selenium metabolism and excretion in mice under different selenium nutritional stresses. **Metallomics**, v. 2, p. 126–132, 2009. In: THIRY, C.; RUTTENS, A.; DE TEMMERMAN, L.; SCHNEIDER, Y. J.; PUSSEMIER, L. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. **Food Chemistry**, v. 130, p. 767–784, 2012.

TANDY, S.; CHUNG, R. W.; WAT, E.; KAMILI, A.; BERGE, K.; GRIINARI, M.; COHN, J. S. Dietary krill oil supplementation reduces hepatic steatosis, glycemia, and hypercholesterolemia in high-fat-fed mice. **J. Agric. Food Chem.**, v. 57, p. 9339–9345, 2009.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. **Biomed Pharmacoth**, v. 57, p. 134-44, 2003.

THOMSON, C.D.; CHISHOLM, A.; MCLACHLAN, S.K.; CAMPBELL, J.M. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. **Am J Clin Nutr.**, v. 87, n. 2, p. 379-84, 2008.

UTHUS, E.O.; YOKOI, K.; DAVIS, C.D. Selenium deficiency in Fisher-344 rats decreases plasma and tissue homocysteine concentration and alters plasma homocysteine and cysteine redox status. **Journal Nutrition**, v. 132, p. 1122-1128, 2002.

WOOLLETT, L.A.; SPADY, D.K.; DIETSCHY, J.M. Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. **J. Lipid. Res.**, v. 33, p. 77–88, 1992. In: Ros, E., Mataix, J. Fatty acid composition of nuts—implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**, v. 96, Suppl. 2, p. S29-S35, 2006.

ZIMMERMANN, M.B.; KOHRLE, J. The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health. **Thyroid**, v.12, p. 867–878, 2002.

ANEXOS



Pelotas, 15 de março de 2011.

De: Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Pres. da Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA)

Para: Prof. Rui Carlos Zambiasi

DCTA

FAEM

Senhor Professor:

A CEEA analisou o projeto intitulado: "Caracterização Físico-Química e Avaliação Biológica da Castanha do Brasil", processo nº 23110. 009280/2010-50 sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste Projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa para posterior registro no COCEPE (Código para Cadastro nº CEEA 9280).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da CEEA