



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Laboratório de Análise de Alimentos



Estabilidade Oxidativa de Granulado de Castanha-do-pará

Aluna: **Camila Fernanda Conte**

Orientador: **Marcelo Alexandre Prado**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas
para a obtenção do título de **Mestre**
em **Ciência de Alimentos**

Campinas, 29 de janeiro de 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

C767e Conte, Camila Fernanda
 Estabilidade oxidativa de granulado de castanha-do-pará / Camila
 Fernanda Conte. -- Campinas, SP: [s.n.], 2010.

 Orientador: Marcelo Alexandre Prado
 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos

 1. Castanha-do-pará. 2. Antioxidantes. 3. Tocoferol. 4.
Estabilidade oxidativa. I. Prado, Marcelo Alexandre. II.
Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de
Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Oxidative stability of granulated Brazil nut

Palavras-chave em inglês (Keywords): Brazil nut, Antioxidants, Tocopherol, Oxidative stability

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora: Marcelo Alexandre Prado

Marisa Aparecida Bismara Regitano d'Arce

Renato Grimaldi

Data de defesa: 29/01/2010

Programa de Pós Graduação: Programa em Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado (FEA/UNICAMP)
Orientador

Profa. Dra. Marisa Aparecida Bismara Regitano d'Arce (ESALQ/USP)

Dr. Renato Grimaldi (FEA/UNICAMP)

Prof. Dr. Severino Matias de Alencar (ESALQ/USP)

Profa. Dra. Juliana Azevedo Lima Pallone (FEA/UNICAMP)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais por todo amor e apoio, não só durante a realização deste trabalho, mas também por toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por estar presente em minha vida, agindo sempre com sabedoria a cada momento.

A querida Professora Dra. Marisa Aparecida Bismara Regitano d'Arce por ter me acolhido tão carinhosamente. Seus conselhos e sua dedicação foram essenciais para que este trabalho se tornasse real. A você, fica toda minha gratidão e admiração não só pela profissional que se mostra ser cada dia que passa, mas também por ser uma das pessoas mais incríveis que conheci.

Ao Professor Severino por todo o suporte dado durante este trabalho e por ter me recepcionado tão bem em seu laboratório para as minhas análises cromatográficas. Obrigada pela oportunidade. Trabalhar ao seu lado e com sua equipe, me fez descobrir o grande pesquisador que é.

Aos colegas da ESALQ dos Laboratórios de Bioquímica e de Óleos e Gorduras pela colaboração, paciência e auxílio durante minhas análises. Em especial a Maria Fernanda de Almeida Prado pelo cuidado com minhas amostras durante minha ausência e pelas divertidas horas de trabalho juntas. Também agradeço a querida Ivani Moreno por seu comprometimento e dedicação em minhas análises cromatográficas.

A querida amiga Rogerinha pelo incentivo, companheirismo e amizade em todos os momentos, todos mesmo!

A Marina pela amizade e apoio principalmente durante minha qualificação.

A mais que especial Gi, pela dedicação e disposição com meu trabalho. Sem você ficaria mais difícil fazer acontecer.

Ao Fred por ter me ajudado com sua incrível participação na reta final deste trabalho.

Ao Professor Dr. Marcelo Alexandre Prado pela oportunidade e possibilidade de eu me tornar Mestre.

A Professora Dra. Helena Teixeira Godoy por não ter medido esforços para que este projeto viesse a se concluir.

A pessoa especial que é meu Niki, pela compreensão, companheirismo e poderosos incentivos que foram imprescindíveis para esta realização. Você estar ao meu lado faz que tudo seja melhor, sempre.

Aos meus pais, os maiores responsáveis por eu ser a pessoa que sou, por sempre estarem ao meu lado indicando o melhor caminho a seguir. São vocês minha maior referência e exemplo de vida. Serei sempre grata por tudo.

A minha irmã, pelo amor e confiança. Tento ser ao máximo a irmã mais velha exemplar para que você seja melhor ainda.

Aos meus avós, tios e toda família pela torcida, apoio e carinho. Em especial a Vó Terezinha pelo acolhimento em sua casa, compreensão, paciência e estímulo para a conclusão de mais uma etapa. Beijinhos para minhas priminhas Laurinha e Sophia por me proporcionarem momentos para recarregar as energias e seguir em frente.

Aos amigos Maria José, Pedro, Alexandra e Déborah pelas deliciosas estadias tão valiosas durante minhas análises na ESALQ.

A participação da professora Thais Vieira por sua atenção e disponibilidade para me ajudar mesmo que à distância.

A empresa Ouro Verde pela disponibilidade das matérias-primas para a realização desse trabalho.

Ao CNPQ, pela concessão da bolsa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste projeto.

RESUMO

Estabilidade Oxidativa de Granulado de Castanha-do-pará

Aluna: Camila Fernanda Conte

Orientador: Marcelo Alexandre Prado

Um dos valiosos subprodutos da castanha-do-pará é o granulado, obtido por meio da trituração da torta, produto da prensagem da castanha. Ele pode ser usado como alternativa na alimentação principalmente nas regiões produtoras e também pode enriquecer alguns produtos como farinha, além de sofisticar algumas receitas. Por seu alto teor lipídico e predominância de ácidos graxos poliinsaturados, a castanha-do-pará e seus subprodutos são susceptíveis à oxidação, sendo de extrema importância o controle das condições como temperatura, luz, umidade para sua conservação. Em sua composição, no granulado assim como na própria castanha, se destacam os tocoferóis com seu alto poder antioxidante. Para este trabalho, se avaliou o *shelf-life* do granulado armazenado em diferentes embalagens durante 6 meses à temperatura ambiente sob luz indireta. Foram quatro tratamentos com 300g de amostra: embalagem metalizada a vácuo e sem vácuo, embalagem transparente com vácuo e sem vácuo. Os resultados demonstraram que as amostras se apresentaram estáveis sem diferença significativa entre os tratamentos durante o período analisado. O índice de acidez se apresentou baixo entre 0,2 e 0,36 mg KOH/g e o índice de peróxido permaneceu entre 0,4 e 1,0 meq O₂/1000g. A absortividade na faixa do UV também não variou significativamente, indicando que a oxidação foi incipiente. O perfil de ácidos graxos não sofreu nenhuma alteração. Os tocoferóis foram identificados em HPLC e não houve separação dos isômeros β e γ , presentes em maior quantidade do que o α e δ tocoferóis. Os teores de tocoferóis totais variaram entre 25,0 e 29,07mg/100g, considerados altos quando comparados aos da literatura. Isto pode explicar a excelente conservação do produto durante os seis meses de estudo.

ABSTRACT

Oxidative Stability of Granulated Brazil Nut

Author: Camila Fernanda Conte

Advisor: Marcelo Alexandre Prado

One of the most valuable subproducts of Brazil nut is the granulated, obtained through the cake milling after nut pressing. It may be used as an alternative in nutrition especially in the producing regions and also may enrich some products such as flour, besides the sophistication of some recipes. Due to its high lipidic content and mainly polyunsaturated fatty acids, the Brazil nut and its subproducts are susceptible to oxidation, being extremely important for its conservation the control of the conditions such as temperature, light and moisture. Tocopherols, with high antioxidation substances are outstanding in the granulate composition, as well as in the nut itself. In this study, the granulated shelf-life was evaluated in different packaging conditions during 6 months storage at room temperature and indirect light. Four treatments with 300 mg samples were planned: metal vacuum and non-vacuum packaging, transparent vacuum and non-vacuum packaging. During the analysis, samples showed to be stable with no significant differences among the treatments and period of time. The acidity level was low, ranging from 0.2 - 0.36mg KOH/g and the peroxide level remained between 0.4 - 1.0mEq O₂/1000 g. Absorptivity in UV range did not range significantly, i.e., indicating incipient oxidation. The fatty acid profile did not show any alteration. Tocopherols were identified by HPLC and there was no separation of isomers β and γ , present in larger amounts than tocopherols α and δ . Total tocopherol levels ranged from 25.0 - 29.07mg/100g, considered high when compared to the literature. This may explain the excellent product shelf life during the study storage period.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Castanha-do-pará	4
3.1.1. Produção e consumo	7
3.1.2. Subprodutos da castanha-do-pará	8
3.1.3. Selênio	12
3.2. Oxidação lipídica	13
3.3. Antioxidantes	16
3.4. Tocoferóis	18
3.4.1. Métodos analíticos para determinação de tocoferóis	20
3.5. Embalagens	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1. Materiais	29
4.2. Métodos	32
4.2.1. Análises físico-químicas	32
4.2.1.1. Prensagem	32
4.2.1.2. Teor de óleo	33
4.2.1.3. Umidade	33
4.2.1.4. Índice de peróxido	33
4.2.1.5. Acidez	34
4.2.1.6. Absorbância específica	34
4.2.2. Tocoferóis e ácidos graxos	35
4.2.2.1. Extração	35
4.2.2.2. Análise cromatográfica	35
4.2.3. Perfil de ácidos graxos	36
4.2.3.1. Extração	36
4.2.3.2. Análise cromatográfica	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1. Teor de óleo	37
5.2. Umidade	37
5.3. Acidez	37
5.4. Índice de peróxido	39
5.5. Absortividade no UV	41
5.6. Perfil de ácidos graxos	44
5.7. Tocoferóis	48
6. CONCLUSÃO	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Castanheira-do-pará	4
Figura 2:	Ouriço e as sementes de castanha-do-pará	5
Figura 3:	Esquema geral da oxidação lipídica	15
Figura 4:	Estrutura química do tocoferol e seus isômeros	18
Figura 5:	Granulado de castanha-do-pará.....	29
Figura 6:	Amostras dos tratamentos 1 e 2, respectivamente	30
Figura 7:	Amostras dos tratamentos 3 e 4, respectivamente	30
Figura 8:	Armazenamento das amostras	31
Figura 9:	Prensa hidráulica Fred S. Carver	32
Figura 10:	Índice de acidez (mg KOH/g) do granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses	38
Figura 11:	Índice de peróxido (meq O ₂ /1000g) do granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses	40
Figura 12:	Absortividade em 232 nm da fração lipídica de granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses em diferentes embalagens	41
Figura 13:	Absortividade em 270 nm da fração lipídica de granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses em diferentes embalagens	43
Figura 14:	Perfil de ácidos graxos encontrados nas amostras durante o início do tratamento, após 3 meses e aos 6 meses de armazenamento	47
Figura 15:	Cromatograma dos ácidos graxos do granulado de castanha-do-pará. Coluna DB-23, 60m x 0,25mm x 0,2µm. Temperaturas: injetor 270°C e detector 280°C; gás de arraste H ₂ ; volume de amostra injetado: 0,3 µL; detector FID	47
Figura 16:	Tocoferóis (%) dos tratamentos aplicados ao granulado de castanha-do-pará durante os tempos de análise	49
Figura 17:	Cromatograma dos tocoferóis do granulado de castanha-do-pará. 1: α-tocoferol; 2: γ-tocoferol; 3: δ-tocoferol; 4: -tocoferol. Coluna C18 REGIS-Rexchron S5-100-ODS 25cm x 4,6mm x 5 µm; fase móvel: metanol: água 97:3 v/v, vazão 0,8 mL/min; detector DAD em 295 nm	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Composição química da amêndoa de castanha-do-pará	6
Tabela 2:	Composição química da torta desengordurada, do concentrado e do isolado protéico de castanha-do-pará	9
Tabela 3:	Índices de acidez (mg KOH/g) da fração lipídica de granulado de castanha-do-pará durante 6 meses de armazenamento	38
Tabela 4:	Índices de peróxido (meq O ₂ /1000g) para amostras de granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses.	40
Tabela 5:	Absortividade em 232 e 270 nm de granulado de castanha-do-pará armazenadas por 6 meses sob diferentes tratamentos	42
Tabela 6:	Composição (%) de ácidos graxos para o tratamento 1	44
Tabela 7:	Composição (%) de ácidos graxos para o tratamento 2	45
Tabela 8:	Composição (%) de ácidos graxos para o tratamento 3	45
Tabela 9:	Composição (%) de ácidos graxos para o tratamento 4	46
Tabela 10:	Teor de tocoferóis (mg/100g) nos granulados de castanha-do-pará	48

1. INTRODUÇÃO

A castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) pertencente à família Lecitidáceas é uma das riquezas do Brasil, principalmente por ser um alimento fonte de nutrientes essenciais. A maior parte da castanha-do-pará colhida no Brasil destina-se ao consumo *in natura*, com um grande potencial promissor para a indústria de alimentos.

Ela é conhecida como “carne vegetal” porque além de aminoácidos essenciais para o ser humano é constituída por 12% a 17% de proteínas, 60 a 70% de lipídios, destacando-se em maior parte os ácidos graxos poliinsaturados, além de sais minerais e vitaminas (SARRUF, 2004).

Quando as castanhas se apresentam quebradas ou com defeitos, sem aceitação pelo mercado externo, são descartadas e, alternativamente, podem servir de matéria-prima para a extração de óleo. O teor de óleo encontrado nas castanhas é de 50 a 67% e apresenta como característica um óleo amarelado, claro, transparente, inodoro e doce, podendo ser empregado na indústria farmacêutica, cosmética, na iluminação e lubrificação de mecânica fina, enquanto que na Europa é conhecido por substituir a amêndoa em doces finos (COSTA, 2007).

O óleo é obtido por meio da prensagem, caracterizado por sua rica fração lipídica. Ao resíduo desta extração, dá-se o nome de torta (GLÓRIA e REGITANO-D'ARCE, 2000).

A produção da torta de castanha-do-pará parcialmente ou completamente desengordurada é uma solução para diminuir o seu alto valor calórico, tornando-se mais viável para o consumo já que ocorre grande parte da extração dos lipídios. Na região Amazônica, a torta é bastante utilizada devido a seu valor nutricional e grande disponibilidade principalmente na aplicação em alimentos enriquecendo produtos para panificação, farinhas, leites, cereais, sorvetes, doces e outros (GLÓRIA e REGITANO-D'ARCE, 2000; MENEZES *et al.*, 2004).

O óleo obtido da castanha é susceptível à oxidação devido aos ácidos graxos poliinsaturados, entre eles, o ácido oléico e linoléico, este encontrado em maior fração e reconhecido como ácido graxo essencial (SOUZA, 1994; TATEO, 1971).

Para não ocorrer perda do valor nutricional e funcional, conseqüências das reações de oxidação, é essencial boas condições de armazenamento como temperatura amena, embalagem e luz adequada. Há ainda um crescente interesse nesta reação de oxidação, considerando que a ingestão de alimentos com lipídios oxidados está entre um dos fatores de risco para a saúde já que pode promover oxidação *in vivo*. Sendo assim, doenças como coronárias, aterosclerose e câncer podem ser desencadeadas (EITENMILLER e LEE, 2004).

Desde que os radicais livres começaram a ser uma questão importante a ser estudada devido à sua ação em doenças, a suplementação da dieta com antioxidantes tem sido cada vez mais relevante (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000).

Antioxidantes são reconhecidos por seu potencial na prevenção de doenças associadas à idade como câncer e aterosclerose (YU *et al.*, 2005), pois têm a função de interromper a formação de radicais livres (KAMAL-ELDIN e APPELQVIST, 1996; MCLAREN *et al.*, 1993).

A atividade antioxidante depende de fatores como as reações envolvendo peróxilas e outros radicais, sua concentração, temperatura, luz, tipo de substrato, estado físico do sistema e outros vários componentes agindo como pró-oxidantes ou sinérgicos (YANISHLIEVA, 1998; KAMAL-ELDIN e APPELQVIST, 1996).

A vitamina E tem grande importância por sua lipossolubilidade nos tecidos, protegendo os PUFA's (ácidos graxos poliinsaturados) da peroxidação e auxiliando na manutenção da integridade das membranas celulares (LEENHER *et al.*, 2000). Por isso, os compostos da vitamina E como os tocoferóis e tocotrienóis são conhecidos pela inibição da oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos (EITENMILLER e LEE, 2004).

Os tocoferóis e tocotrienóis existem sob a forma dos isômeros α , β , γ e δ , dependendo do número e posição do grupo metila ligado ao anel carbônico e diferem quanto à presença de insaturação da cadeia, enquanto o tocoferol é saturado, o tocotrienol não é (SHAHIDI, 1997). Sintetizado somente pelas plantas, os tocoferóis são encontrados principalmente em óleos como de girassol e trigo, portanto, estes nutrientes são obtidos através da dieta. O RDA (Recommend Dietary Allowance) recomenda o consumo de 10 mg de α tocoferol por dia e está diretamente ligado ao consumo de PUFA (LEENHER *et al.*, 2000).

Neste trabalho será abordado o reaproveitamento da torta triturada de castanha-do-pará, conhecida como granulado.

2. OBJETIVOS

A castanha-do-pará além de ser um produto nacional extremamente importante para a economia do país, contém valores nutricionais e funcionais importantes para a saúde do ser humano devido ao seu poder antioxidante. Baseado nestes fatos, este trabalho, que traz como objeto de estudo o granulado da castanha-do-pará, tem como objetivos:

- analisar o *shelf life* em diferentes condições de armazenamento;
- avaliar a melhor embalagem para conservação do granulado;
- avaliar o potencial antioxidante do granulado e quantificação de tocoferóis.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Castanha-do-pará

A castanha-do-pará é um dos frutos mais importantes da Floresta Tropical Amazônica. Sua árvore, uma espécie nativa da região Amazônica, apresenta altura de até 50m e 5m de diâmetro na base do tronco (**Figura 1**). O fruto, também conhecido como ouriço, tem a casca espessa e dura, com característica de uma cápsula globosa-deprimida, quase esférica com 8 a 18 cm de diâmetro, em seu interior podem-se encontrar de 12 a 24 sementes mais ou menos triangulares (**Figura 2**). As sementes caem naturalmente após a maturação, conservando-se durante anos em bom estado. Somente depois de oito anos a castanheira frutifica, porém, só aos doze atinge a produção normal (MENEZES *et al.*, 2004).



Figura 1: Castanheira-do-pará

Além de ser fonte de renda de famílias extrativistas amazônicas, a importância da castanha se deve também ao seu alto valor nutricional (ROGEZ, 1995). Diversos estudos mostram que a castanha-do-pará apresenta de 60 a 70% de lipídios, 15 a 20% de proteína de boa qualidade biológica, em torno de 4,5% de água, 6% de carboidratos e 3% de fibras, além de sais minerais e vitaminas, conforme apresenta a **Tabela 1** (CARDARELLI e OLIVEIRA, 2000; SOUZA *et al.*, 2001).

Seu consumo é bastante diverso, podendo ser *in natura* ou ainda, assada e salgada, e também na elaboração de sorvetes, em confeitarias, panificação como substituto da farinha de trigo, etc.



Figura 2: Ouriço e as sementes de castanha-do-pará

A amêndoa da castanha contém boa qualidade de óleo de alto valor alimentar, apresentando 13,8% de ácido palmítico, 8,7% de ácido esteárico, 31,4% de ácido oléico e 45,2% de ácido linoléico (TATEO, 1971). De acordo com GUTIERREZ *et al.* (1997), o óleo da castanha também apresenta uma pequena quantidade dos ácidos mirístico e palmitoléico. Por sua grande quantidade de ácidos graxos insaturados, apresenta instabilidade oxidativa (BONVEHI e COIL, 1993).

Os minerais que podem ser encontrados na castanha são Ba, Br, Ca, Co, Cs, Mg, Ni, Rb, Sr e Se. O selênio é o que apresenta maior importância. Dentre as vitaminas, destacam-se principalmente as B1 e B3, pró-vitamina A e vitamina E (ROGEZ, 1995).

A castanha-do-pará é um dos alimentos que apresenta maior concentração de aminoácidos sulfurados (8,3% por peso) em sua composição. A metionina é o mais relevante

devido ao seu alto teor e também porque este aminoácido é deficiente na maioria das proteínas vegetais. Já a lisina é o aminoácido limitante e tal deficiência pode ser suprida com a complementação de produtos ricos nesse aminoácido, como a soja (FELBERG, 2004).

Tabela 1: Composição química da amêndoa de castanha-do-pará (fonte: ROGÉZ, 1995).

COMPONENTE	COMPOSIÇÃO (g/100g)
Água	5,0
Proteína	14,0
Lipídios Totais	66,0
Carboidratos	11,0
Fibra Bruta	2,0

Estudos mostram que o elevado teor de metionina no extrato solúvel de castanha e também na própria castanha, comparado qualitativamente com alimentos infantis é bastante adequado para aplicação em dietas infantis devido à sua composição química e valor nutricional (PEREIRA, 1976).

A castanha-do-pará foi denominada “carne vegetal” por ter em sua composição uma albumina específica, a excelsina, a qual, contém todos os aminoácidos indispensáveis ao crescimento e equilíbrio orgânico humano, além de vitaminas. É um alimento único, de elevado valor protéico e que apresenta características muito valiosas em sua composição, não encontradas em nenhum outro alimento (SOUZA, 1984). Os estudos de COSTA (1959) já mostram que a proteína contida na castanha desenvolve excelente crescimento em animais jovens, comparável ao leite.

Devido ao alto valor biológico de sua proteína, a castanha pode complementar dietas pobres em carnes e ovos. Foi por ter grande importância que SOUZA *et al.* (2001) desenvolveram biscoitos com diferentes ingredientes, sendo os de castanha-do-pará o de maior rendimento, por proporcionar uma grande retenção de água.

A castanha é rica em ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e poliinsaturados (PUFA), além do alto teor de magnésio e aminoácidos sulfurados, despertando grande interesse, pois

acredita-se que ainda há muito o que pesquisar sobre seus efeitos no organismo humano (STRUNZ *et al.*, 2008).

3.1.1. Produção e consumo

Com produção aproximada de 40 mil toneladas por ano, mais de 90% das castanhas são exportadas. Em 2004, ocupava o segundo lugar no ranking mundial de exportações. Os principais estados produtores da castanha-do-pará são Acre, Amazonas, Amapá, Rondônia e Pará. A Bolívia é o maior exportador mundial (SARRUF, 2004).

O país ainda não exporta o óleo, pois perde seu valor nutricional muito rapidamente na presença de luz, oxidando-se. Portanto, antes de começar a comercializar é preciso desenvolver embalagens específicas, que sejam opacas para impedir que o conteúdo se deteriore (SARRUF, 2004).

O mercado interno consome apenas 8% da produção de castanha-do-pará, enquanto que o restante é exportado. Há muitos estudos para o incentivo do consumo deste produto nacional, porém ainda apresenta um preço alto nos supermercados, sendo considerado de elite (SARRUF, 2004).

Projetos desenvolvidos pela Embrapa visam aumentar o consumo interno de castanhas e os subprodutos derivados do fruto, como o óleo, que pode ser usado para frituras de alimentos. Estudos têm sido realizados a fim de se encontrar formas para agregar valor à matéria-prima. Como exemplo, tem-se o uso da farinha desengordurada ou granulada na formulação de massas, pães e biscoitos e também os snacks, que são castanhas despelculadas e salgadas que apresentaram boa aprovação dos consumidores.

Além de beneficiar a economia extrativista da Amazônia, a castanha-do-pará ainda coopera com a preservação da floresta. Também é uma alternativa de alimento para esta região, por meio de seu produto *in natura* e sua torta (GLÓRIA e REGITANO-D'ARCE, 2000).

Existe um comércio ilegal com a Bolívia, o que faz com que parte da castanha brasileira seja desviada sem controle fiscal. Sendo assim, a Bolívia se tornou uma grande concorrente do Brasil, o que contribuiu para a diminuição da exportação nos últimos anos aliado a outros fatores como barreiras sanitárias impostas pelos países europeus e contaminação por aflatoxinas (PIMENTEL *et al.*, 2007).

3.1.2. Subprodutos da castanha-do-pará

As castanhas podem ser comercializadas com ou sem casca, desidratadas ou semidesidratadas (VIANNA, 1972). A industrialização é incipiente, restrita às áreas de produção entre os castanheiros (RIBEIRO *et al.*, 1993). Quando quebradas ou com defeitos, há cerca de 10% de rejeição do mercado externo sendo então descartadas ou alternativamente, servindo de matéria-prima para alguns subprodutos (GLÓRIA e REGITANO-D'ARCE, 2000). O beneficiamento da castanha por meio da fabricação industrial de óleo e aproveitamento de subprodutos encontraram problemas, como a baixa qualidade da conservação, tendo o ranço como principal consequência, além da dificuldade em se quebrar a casca da castanha (CARDARELLI e OLIVEIRA, 2000).

A amêndoa é a principal forma de consumo da castanha-do-pará, entretanto, subprodutos como óleos, farelo ou torta, leite e ouriço podem ser explorados comercialmente. A madeira também, de ótima qualidade pode ser utilizada para reflorestamento (COLLARES, 2006).

Com seu alto valor nutricional aliado ao sabor agradável, o granulado de castanha-do-pará tem potencial de consumo entre a população se a indústria souber aproveitá-lo para aplicar em produtos novos e que garantam a mesma qualidade que quando consumido *in natura* (CARDARELLI e OLIVEIRA, 2000).

Conforme CARDARELLI e OLIVEIRA (2000), sabe-se que a conservação do extrato fluido de castanha-do-pará por meio da pausterização, adicionado ou não de conservantes químicos e armazenados sob refrigeração, pode contribuir para a utilização de novos produtos obtidos de subprodutos na alimentação humana, complementando a dieta com uma boa fonte nutricional.

Apesar da diferença do processo de preparação, do aspecto físico (granulação) e da composição química (polissacarídeos e proteínas), as farinhas e outros subprodutos da castanha-do-pará guardam particularidades físicas e químicas próprias da matéria prima original (PRADO-FILHO, 1994)

Os produtos derivados da castanha é objeto de muitos estudos há tempos. A obtenção de extrato e farinha de castanha despelculada foi considerada viável por REGITANO-D'ARCE e SIQUEIRA (1995). No Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP, além de trabalhos realizados com a castanha, o óleo bruto, leite e farinha, também pesquisou-se o aproveitamento da torta, resíduo da prensagem

das castanhas quando o óleo é obtido, conforme apresentado na **Tabela 2** (GLÓRIA e REGITANO-D'ARCE, 2000).

Da extração do óleo por processo mecânico ou solventes, obtém-se como resíduo a torta e o farelo, utilizado em alimentação humana e animal (SOUZA *et al.*, 2001).

Tabela 2: Composição química da torta desengordurada, do concentrado e do isolado protéico de castanha-do-pará (fonte: GLÓRIA e REGITANO-D'ARCE, 2000).

PRODUTOS	Umidade (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lipídio (g/100g)	Carboidrato (g/100g)
Torta	4,5	47,6	1,2	32,7
Concentrado	8,9	59,3	1,4	27,0
Isolado	10,2	81,6	0,2	3,3

O óleo de castanha-do-pará é líquido à temperatura ambiente, de cor amarelo-clara, com sabor e aroma agradáveis, característicos da castanha, além de apresentar boa conservação do caroteno. O óleo por conter antioxidantes naturais como os tocoferóis e caroteno, sendo um produto que garante a sua própria conservação, se mantido em condições adequadas (PECHNIK *et al.*, 1950). O teor médio de óleo encontrado em base seca é entre 60% e 70% (FREITAS *et al.*, 2007).

Em uma tecnologia utilizada para extração de óleo de castanha-do-pará com o uso do etanol como solvente, obtém-se um gel (miscela rica) que pode ser usado em cosméticos ou creme vegetais como substituto parcial de gorduras hidrogenadas. O óleo obtido pode ser usado como óleo comestível por ser rico em ácidos graxos insaturados (FREITAS *et al.*, 2007).

SOUZA e MENEZES (2004) realizaram uma extração seguida de uma re-extração de óleo da torta a fim de reduzir ao máximo possível o teor de óleo. O teor de lipídios obtido na torta após a re-extração foi de 25,13%, demonstrando que a prensagem foi ineficiente para obtenção da torta com um grau de desengorduramento ideal para uso como fonte protéica vegetal com reduzido valor calórico já que tem extraído grande quantidade de lipídios. Este também não é um problema, já que sob o ponto de vista nutricional, o maior componente da

fração graxa da castanha-do-pará é o ácido linoléico, um ácido graxo essencial para o homem (SOUZA e MENEZES, 2004).

Do óleo ou de aproveitamento de seus subprodutos, a castanha-do-pará perde sua estabilidade oxidante, desenvolvendo rapidamente o ranço comprometendo o flavor e a textura do produto com os diferentes mecanismos de extração (RODRIGUES *et al.*, 2005). O óleo bruto de castanha quando comparado aos óleos de sementes de maracujá e seringueira, todos de plantas típicas da Amazônia, apresentou estabilidade intermediária quanto à oxidação, devido ao seu teor de ácidos graxos insaturados (41,2% de oléico e 36,1% de linoléico) (ASSUNÇÃO *et al.*, 1984).

É da torta que quando triturada origina o granulado, objeto deste estudo. Caracteriza-se pelo sabor fino e adocicado e por ser "desengordurado", ou seja, com um teor menor de lipídios do que a castanha-do-pará. Pode ter diferentes aplicações, entre elas com cereais no café da manhã, como cobertura de sorvetes, em pães, na confeitaria e em receitas mais elaboradas. Quanto à sua composição, o granulado mantém o elevado teor de ômega 6, ômega 9 e minerais antioxidantes, como o selênio encontrado na castanha, por isso é um alimento com alto valor nutricional. Poucos estudos exploraram os subprodutos de castanha-do-pará e quase não se encontra na literatura trabalhos sobre o granulado, considerando que ele tem as mesmas características nutricionais de seu produto de origem, revelando assim, uma grande importância.

Outro subproduto importante é a farinha obtida da castanha, que se misturada à farinha de trigo na panificação, resulta em pães com valor nutricional superior àqueles que utilizam somente a farinha de trigo (RIBEIRO *et al.*, 1993). Segundo pesquisas realizadas (SUDAM, 1982), a farinha também pode ser utilizada na fabricação de pasta de castanha e em mistura com o trigo na fabricação de biscoitos com sabor de castanha.

A amêndoa e a torta de castanha-do-pará apresentam elevados valores calóricos, sendo a torta, além de fonte de proteína vegetal e alto valor protéico, também é rica em selênio e fibra, devendo ser aproveitada para enriquecer e incorporar em alimentos (SOUZA e MENEZES, 2004). A torta não tem sido utilizada pelas indústrias de alimentos para a nutrição humana e é aplicada somente em formulações de rações animais. Uma das diversas possibilidades para ampliar seu uso é transformar em proteína isolada ou em porções protéicas (PINTO RAMOS e BORA, 2003).

As tortas das sementes de oleaginosas, após a extração de óleo, contêm alto valor protéico que podem reduzir a desnutrição da população. Estas tortas e seus subprodutos como o granulado de castanha-do-pará podem sofrer alterações microbiológicas e químicas inviabilizando o seu consumo.

A globulina isolada presente na castanha-do-pará apresenta um grande potencial quando aplicado em bebidas ricas em proteínas ou em sucos de frutas, já que o pH de solubilidade é abaixo de 4,0. Além de apresentar também uma satisfatória capacidade de absorção de água, sugerindo também seu uso na preparação de bolos, pães e massas, sua atividade emulsificante e estabilidade também poderiam ser exploradas na formulação de alimentos com emulsões (PINTO RAMOS e BORA, 2003).

Em SOUZA e MENEZES (2004), a quantidade de aminoácidos encontrados na torta foi menor do que a encontrada na amêndoa, o que pode ser justificado pela grande presença de película marrom na torta, elevando assim o percentual de fibras totais e cinzas, reduzindo o de aminoácidos. Mesmo assim, vários autores classificam a proteína da castanha-do-pará como um dos alimentos vegetais mais completos.

Diferenças entre os valores encontrados na composição da castanha e seus subprodutos podem ser explicadas pela origem e tipo de castanha, métodos de extração e conservação (SOUZA e MENEZES, 2004).

A castanha-do-pará foi utilizada em um estudo sobre elaboração de bebidas à base de extrato de soja integral, devido ao seu sabor agradável e suas propriedades. A fim de se obter um produto que agradasse aos participantes que buscam alimentos saudáveis conciliando seu aspecto sensorial e nutricional além do aproveitamento da castanha no mercado interno (FELBERG *et al.*, 2004).

Também é possível se obter como subproduto o suco leitoso por meio da adição de água à amêndoa ralada. Pode ser empregado como substituto ou complemento do leite de vaca em mistura com o café, em iguarias regionais e em tratamentos de manchas de pele (COSTA, 2007).

3.1.3. Selênio

A castanha-do-pará é conhecida por ser uma fonte rica de selênio, com concentrações consideráveis registradas na literatura entre 8 e 83 µg/g. Em castanhas com casca podem-se encontrar maiores concentrações do que aquelas sem casca (THOMSOM *et al.*, 2009).

O Conselho Nacional Americano de Pesquisas preconiza 1µg por quilo de peso corporal ao dia. Os requerimentos diários são da ordem de 50 a 75µg para adultos (SOUZA e MENEZES, 2004).

A biodisponibilidade de selênio nos alimentos vem sendo pesquisada. Alimentos como farinha de trigo, peixe e carne são fontes de selênio, porém apresentam baixo conteúdo, sendo assim, o consumo destes deve ser alto para satisfazer as necessidades de selênio no corpo. Estudos realizados em ratos demonstram que a biodisponibilidade de selênio da castanha-do-pará é a mesma que a do selenito de sódio utilizado para a restauração de tecido e da atividade da selênio-proteína, sendo provavelmente aplicada à prevenção de tumores (LISK, 1994). Entretanto, não houve estudos comprovando os mesmos efeitos em humanos (THOMSOM *et al.*, 2009).

THOMSOM *et al.* (2009) avaliaram a eficácia do consumo de castanhas-do-pará em comparação com um suplemento de 100µg Selênio, em população com baixo nível de ingestão. Em ratos, comprovou-se que a ingestão de castanha-do-pará preveniu o câncer de mama. Num período de 12 semanas, o consumo diário de 2 castanhas-do-pará por dia tem o mesmo efeito da suplementação de 100 µg Selênio.

Doenças alcoólicas que requerem consumo hepático de selênio para compensar a produção exagerada de radicais livres durante o metabolismo do etanol, doenças dermatológicas que eliminam excessivamente selênio pela pele, desnutrição e pacientes com nutrição parenteral em reanimação induzem a perda de selênio (THOMSOM *et al.*, 2009).

O selênio atua como protetor de doenças crônicas como aterosclerose, câncer, artrite e cirrose além de retardar o envelhecimento, preservar a elasticidade dos tecidos e neutralizar os radicais livres. Por isso deve-se consumir produtos ricos em selênio, porém em quantidades pequenas, pois quando ingerido em altas doses, é considerado tóxico em animais. Na China, mais de um quarto dos casos de câncer de esôfago e estômago estão relacionado aos baixos níveis de selênio na população. Estudos envolvendo estas duas variáveis, selênio e doenças, foram amplamente explorados de modo que ocorre a suplementação com selênio, em forma

massiva a população da China, da mesma forma em que se suplementa com flúor ou folato em outros países (SOUZA e MENEZES, 2004).

Apesar do alto valor lipídico, o consumo de 45g diárias de castanha-do-pará durante um curto período, em comparação com outras castanhas como avelãs, pecãs, pistaches e amendoins não afeta a estabilidade dos marcadores de lipídios da aterosclerose e de apolipoproteínas. A única alteração no HDL funcional conforme os parâmetros utilizados para medição foi o aumento da recepção do éster de colesterol por meio da lipoproteína, o que pode significar um mecanismo de proteção contra a aterosclerose (STRUNZ, 2008).

Na amêndoa de castanha-do-pará foi encontrado 2,04mg/kg de selênio (correspondente a 204µg/100g), teor que não ultrapassou a dose de 400µg UL (máximo nível tolerável de ingestão de selênio/dia sem efeitos adversos). Na torta foi encontrado 7,13mg/kg, sendo 3,56 vezes maior que o teor da amêndoa, o que pode ser explicado pela presença de película nas amêndoas utilizadas para obtenção da torta. Não foram encontrados na literatura dados sobre o teor de selênio na torta desta amêndoa (SOUZA e MENEZES, 2004).

CHANG *et al.* (1995) citam que o consumo diário de castanha-do-pará pode produzir oxidação devido ao bário presente nos minerais do solo Amazônico. Estudos mostram que em plantas da região há 14 ppm de bário, porém a castanha-do-pará contém 4000 ppm. O bário se deposita nos músculos e ossos em humanos. Por isso, há uma certa rejeição em alguns países como a Nova Zelândia por não saber ao certo quão prejudicial é esta recomendação (THOMSOM *et al.*, 2009).

Uma simples recomendação por meio de mais propagandas e incentivos de órgãos públicos para inclusão de pelo menos 1 castanha por dia na dieta permitiria o aumento dos níveis de selênio no sangue (THOMSOM *et al.*, 2009).

3.2. Oxidação lipídica

Durante o metabolismo natural, espécies reativas de oxigênio como peróxidos e outros radicais são formados e podem agir sobre os ácidos graxos poliinsaturados. Os produtos primários e secundários da oxidação lipídica são prejudiciais a saúde. No corpo, o excesso de radicais livres afeta a membrana lipídica das células produzindo peróxidos lipídicos e espécies reativas de oxigênio que podem conduzir a muitas modificações biológicas podendo causar câncer, danos ao DNA, doenças cardíacas, etc (SUJA *et al.*, 2005).

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo que afeta diretamente o valor comercial dos corpos gordurosos e dos produtos que eles contêm.

A qualidade nutricional do alimento diminui devido às mudanças que a oxidação lipídica provoca, principalmente naqueles ricos em lipídios insaturados. Durante os processos de transformação e armazenamento, os corpos gordurosos sofrem alterações como a oxidação gerando um *flavor* diferente do original e odores e gostos característicos do ranço. Os consumidores e a indústria vêem tal transformação como um defeito do produto e o rejeitam, procurando soluções como a escolha de processos que limitem as operações de arejamento e o tratamento térmico; utilização de matérias-primas refinadas, com baixos teores de água e isentas de prooxidantes; armazenamento a baixas temperaturas e em atmosfera inerte; adição de compostos antioxidantes; utilização de embalagens estanques e opacas à radiação UV, entre outros (SILVA *et al.*, 1999).

A oxidação lipídica pode ocorrer de diferentes formas, pois depende das condições do meio e dos agentes catalisadores sobre os ácidos gordurosos insaturados (SILVA *et al.*, 1999). O esquema da **Figura 3** representa um esquema geral destas reações.

A fotoxidação ocorre devido à radiação UV e presença de sensibilizadores como a clorofila. Como resultado, tem-se hidroperóxidos, que por degradação podem se transformar em aldeídos, hidrocarbonetos e alcoóis. Os hidroperóxidos formados são inodoros e se decompõem em compostos secundários voláteis e não-voláteis (PIEDEDE, 2007).

A autooxidação é a mais complexa por se tratar de um fenômeno químico e complexo por envolver vários catalisadores (temperatura, luz, radicais livres) e 3 fases: iniciação, propagação e terminação (SILVA *et al.*, 1999). Nas duas primeiras fases, a presença de radicais livres, moléculas reativas, é decisiva. Os radicais livres são produzidos durante o metabolismo do oxigênio nos tecidos e são chamados de espécies reativas de oxigênio (ROS – Reactive Oxygen Species). Podem se dividir em radicais (superóxido- O_2^- e hidroxila- $HO^\bullet$) e não radicais como o H_2O_2 . O radical hidroxila é o mais importante, pois desencadeia todo o processo oxidativo já que ele pode remover um átomo de hidrogênio do ácido graxo insaturado (COMBS, 1998).

Oxidação enzimática ocorre através da ação da enzima lipoxigenase sobre os ácidos gordurosos poliinsaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poliinsaturada. Como produtos desta reação, têm-se peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, os quais podem se envolver em diferentes reações degradativas,

semelhantes às observadas para os processos de autooxidação, originando ainda diversos produtos (HALLIWELL *et al.*, 1995).

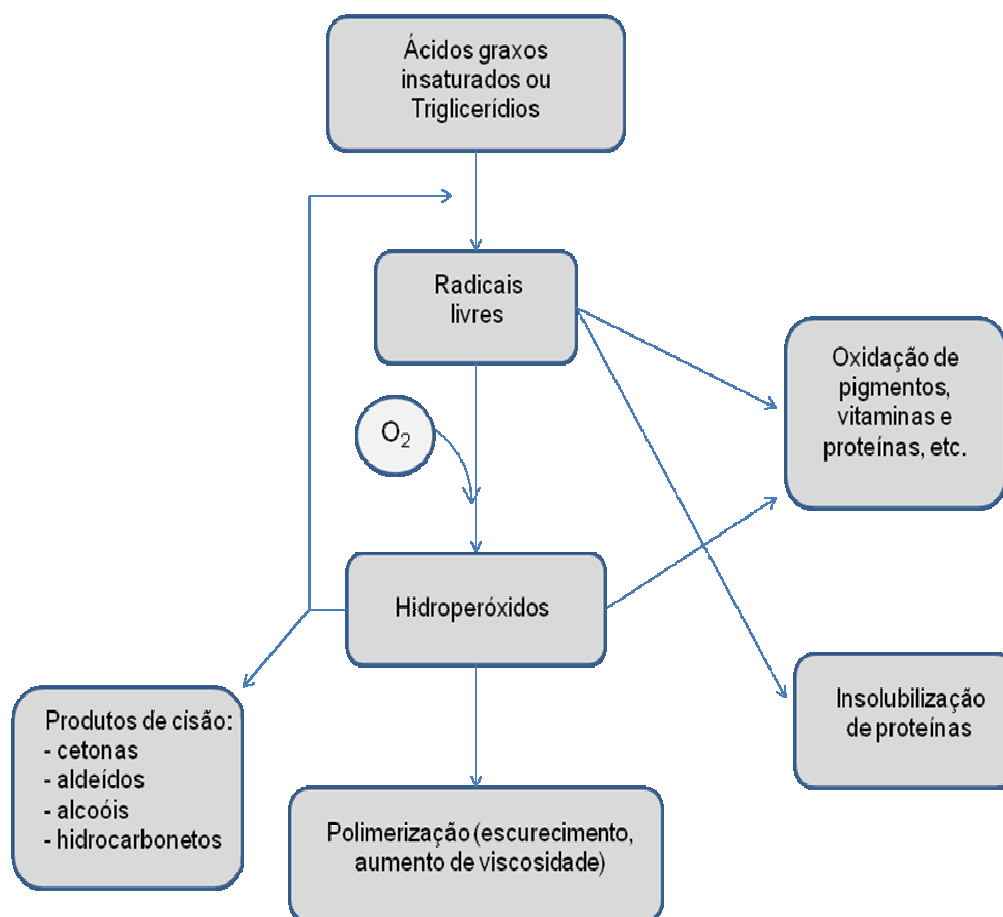


Figura 3: Esquema geral da oxidação lipídica (fonte: SILVA *et al.*, 1999)

Como produtos da oxidação lipídica destacam-se compostos responsáveis pelos *off-flavors* e *off-odors*, reversão e ocorrência de um elevado número de reações de polimerização e cisão. Estas reações diminuem o tempo de vida e valor nutritivo dos produtos, além de gerar compostos nocivos (SILVA *et al.*, 1999). A extensão da oxidação lipídica depende da estrutura química dos ácidos graxos envolvidos assim como outros fatores como o armazenamento e outras condições que podem desencadear tal reação (SHAHIDI, 1997).

3.3. Antioxidantes

Antioxidante pode ser definido como um composto ou substância química que inibe a oxidação. Do ponto de visto biológico, pode-se dizer que protege os sistemas contra os efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (ABDALLA, 1993).

São conhecidos por agir em diferentes níveis na sequência oxidativa envolvendo moléculas lipídicas (SHAHIDI, 1997), o que representa alguma preocupação em relação à qualidade de alimentos. Os lipídios apresentam um alto valor nutritivo aos alimentos devido à sua fonte energética metabólica de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, além de garantir qualidade ao alimento através de suas propriedades organolépticas como o *flavor*, cor e textura (SILVA *et al.*, 1999).

Os antioxidantes atualmente também têm sido bastante citados em estudos relacionando sua ação na prevenção de doenças degenerativas como disfunções cerebrais e coronárias, além do câncer, por apresentarem como causa danos celulares ligados a radicais livres. Sendo assim, o consumo de antioxidantes naturais na dieta reduziria a incidência de tais doenças. Eles agem eliminando parte dos radicais livres do organismo, interrompendo a propagação (fase da oxidação) e dissipando energia através do anel de sua estrutura (ROBEY, 1994).

Eles contribuem para a estabilidade oxidativa dos lipídios, mantendo a sua integridade, o número e a natureza de insaturações, tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio, exposição à luz e ao calor, presença de prooxidantes (SILVA *et al.*, 1999).

Estudos com antioxidantes naturais revelam que estas substâncias protegem o alimento e/ou organismo, neutralizando os radicais livres ou decompondo os peróxidos, além de atuarem como agentes redutores, desativadores de metais pró-oxidantes e como quelantes ou sequestradores do oxigênio singlete (KAHKONEN *et al.*, 1999; RICE-EVANS *et al.*, 1995).

As fontes de antioxidantes naturais da dieta incluem compostos fenólicos e polifenólicos, carotenóides, vitaminas antioxidantes e enzimas. O modo de ação destes antioxidantes durante o controle da autooxidação do alimento e a prevenção da rancidez é diferente para cada um deles (SHUKLA *et al.*, 1997). Antioxidantes naturais podem ser encontrados em diferentes partes de plantas como a madeira, sua casca, seu caule, folhas, sementes, etc. (AMRO *et al.*, 2002).

As vitaminas podem agir como antioxidantes nos alimentos e no corpo, individualmente ou em combinação. As vitaminas lipossolúveis como a E e A, e as hidrossolúveis como a C e o β -caroteno (precursor da vitamina A) são conhecidos por exercer a atividade antioxidante. (SHAHIDI, 1997).

Estudos identificaram compostos ativos em chá verde, semente de canola, gengibre, casca de arroz. Alguns óleos vegetais como o de oliva virgem, gergelim, palma, coco, farelo de arroz, e aveia e vários vegetais como mostarda, nabo, repolho e cebolas apresentam efeitos moderados na estabilização de alimentos lipídicos. Além disso, algumas bebidas como sucos de frutas com plantas selecionadas, que apresentam proporções destes antioxidantes, estão sendo comercializadas, porém, são mais caras do que as bebidas tradicionais. A demanda de consumo deve ser acelerada mostrando seus efeitos benéficos por meio de pesquisas científicas (SHAHIDI, 1997).

O óleo de gergelim é bastante utilizado pelo povo oriental por ser um alimento saudável. Apesar de sua estrutura insaturada, o óleo apresenta substâncias antioxidantes que garantem sua estabilidade. A torta de gergelim é um subproduto do óleo e que é bastante usado como ração animal, nunca antes explorado em estudos. SUJA *et al.* (2005) pesquisaram o potencial antioxidante de extratos da torta de gergelim na proteção contra a oxidação de óleos vegetais comestíveis. Verificou-se que os extratos da torta de gergelim podem substituir os antioxidantes sintéticos em óleos de canola, girassol e soja. Concluiu-se que o poder antioxidante do extrato é muito grande e quando comparado ao sintético BHT apresenta maior eficiência.

Uma alternativa para a prevenção da oxidação é a adição de antioxidantes sintéticos. Entretanto, atualmente há um foco maior em antioxidantes naturais por proporcionar maior segurança na saúde (AMRO *et al.*, 2002). Apresentam como vantagens para a indústria o baixo custo e facilidade de obtenção, termo-resistência e neutralidade organoléptica além de ausência de toxicidade (SILVA *et al.*, 1999).

Entre eles, o BHT (butil hidroxi tolueno) e o BHA (butil hidroxi anisol) têm uso restrito na indústria de alimentos, pois alguns estudos apontam tais substâncias como carcinogênicas. Na Europa e em países como o Japão há rejeição destes antioxidantes e no futuro, estuda-se banir até o mais potente de todos eles atualmente, o TBHQ (tércio butil hidroquinona). Por isso, a procura por antioxidantes naturais por meio de pesquisas tem sido intensificada (SUJA *et al.*, 2005).

3.4. Tocoferóis

Em 1922 o embriologista Herbert Evans e sua assistente Katharine Bishop perceberam que dietas com presença de gordura rançosa favoreciam a reabsorção fetal de ratos. Quando era adicionado gérmen de trigo e alface na dieta, a reabsorção não ocorria (BOURGEOIS, 1992). Primeiramente tal ocorrido foi chamado de fator X e fator antiesterilidade, mas depois, quando um composto ativo da vitamina E foi isolado do óleo de gérmen de trigo em 1936, levou o nome de alfa tocoferol (α -tocoferol; *tocos*, nascimento; *phera*, que confere; *ol*, resultante da função álcool). Em seguida, outros fatos ocorreram como: o isolamento do γ -tocoferol (gama) e β -tocoferol (beta-tocoferol) de um óleo vegetal em 1937, determinação da estrutura do alfa tocoferol e sua síntese em 1938, o reconhecimento do poder antioxidante da vitamina E e o alfa tocoferol como sendo o mais importante deles na prevenção de deficiência de tal vitamina, o isolamento do δ -tocoferol (delta tocoferol) de óleo de soja e ocorrência natural de tocoferóis e tocotrienóis em alimentos (EITENMILLER e LEE, 2004).

Os tocoferóis são antioxidantes biológicos importantes por meio da vitamina E. São 4 tipos: α , γ , β e δ -tocoferol, como pode-se observar na **Figura 4**, sendo que o α tocoferol apresenta a maior atividade biológica como vitamina E e é o mais abundante nos alimentos (KAMAL e APPELQVIST, 1996). Além disso, se destaca por sua atividade antioxidante e previne a oxidação lipídica *in vivo* incluindo ácidos graxos poliinsaturados e componentes lipídicos de células e membranas de organelas (SHUKLA *et al.*, 1997).

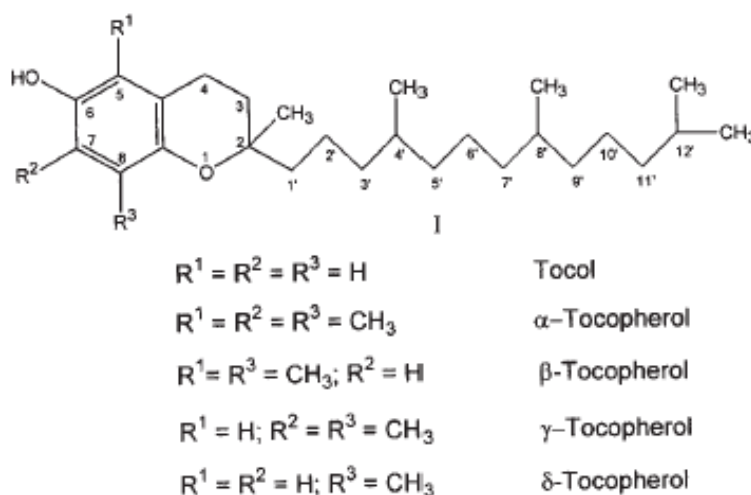


Figura 4: Estrutura química do tocoferol e seus isômeros (fonte: EITENMILLER e LEE, 2004).

A atividade antioxidante dos tocoferóis e tocotrienóis é principalmente devido à habilidade de doar o hidrogênio fenólico ao radical livre interrompendo a propagação em cadeia (SHERWIN, 1976).

Apesar do mecanismo de ação não ser muito conhecido, há uma forte evidência de que os tocoferóis desempenham um importante papel na prevenção de algumas doenças crônicas como as cardíacas e alguns tipos de câncer. Constatou-se que altas concentrações de vitamina E inibem a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados em lipoproteínas plasmáticas, em que a oxidação é responsável por iniciar a aterosclerose (ORTIZ *et al.*, 2006).

Apesar de estarem em uma parte significativa da fração oléica de óleos vegetais e nozes em geral, a proporção de tocoferóis varia com a natureza do óleo e também com fatores como o tempo, o cultivo e origem, entre outros (ORTIZ *et al.*, 2006).

As nozes fazem parte da dieta do Mediterrâneo, local que apresenta baixo índice de mortalidade relacionado a doenças coronárias e câncer (SIMOPOULOS, 2001). Nozes são recomendadas em nossa dieta devido a seus benefícios, pois em estudos prévios, observou-se diferenças significativas em pessoas que as ingeriam. Pesquisas concluíram que havia uma relação entre consumo de nozes e a baixa incidência de tais doenças que poderia estar associado à presença de fatores antioxidantes como tocoferóis (ETHERTON *et al.*, 2001; SIMOPOULOS, 2001).

YURTTAS *et al.* (2000) pesquisaram outros antioxidantes presentes em avelãs que não fossem os tocoferóis. Compostos fenólicos como o ácido gálico, ácido caféico, quercetina, entre outros foram identificados e, concluíram que eles poderiam afetar a estabilidade no armazenamento e ser um importante critério para avaliar sua qualidade.

Fatores como atividade, o tipo de alimento, a concentração utilizada, da presença ou ausência de oxigênio, metais pesados e agentes sinérgicos podem alterar a atividade antioxidante dos tocoferóis (VALENZUELA e NIETO, 1996).

RÉBLOVÁ (2006) estudou a influência da temperatura na atividade antioxidante dos tocoferóis em banha de porco. Quando em temperaturas superiores a 110°C, os tocoferóis analisados, no caso, α e δ tocoferol, tornaram-se ineficientes.

Em estudo publicado por KORNSTEINER *et al.* (2006), foi analisada a concentração de tocoferóis, carotenóides e fenólicos totais em 10 tipos de nozes tipicamente consumidas. Identificou-se pequena quantidade de alfa tocoferol presente em castanha-do-pará (<7mg/100g óleo), sendo o β e γ tocoferóis os predominantes. O isômero δ não foi identificado. A

macadâmia foi a que apresentou os menores teores de constituintes antioxidantes como os polifenóis e tocoferóis.

Depois de 3 meses de armazenamento a 4° C, perdas significativas de tocoferóis foram constatadas: 29% para α , 28% para γ e 30% para δ , sendo o decréscimo para tocoferóis totais de 30%. Esta perda durante o armazenamento está diretamente relacionada à instabilidade dos tocoferóis na presença de insaturação lipídica, álcali e íons metais. Neste caso, a noz contém 60% de ácido linoléico, podendo assim explicar a perda durante os três primeiros meses (LAVEDRINE *et al.*, 1997).

O aumento de temperatura acelera as reações iniciais de oxidação e diminui a atividade dos antioxidantes presentes ou adicionados, entretanto, esta variação de temperatura pode mudar o mecanismo de ação de alguns antioxidantes, afetando-os de diferentes maneiras (LAVEDRINE *et al.*, 1997).

3.4.1. Métodos analíticos para determinação de tocoferóis

A principal hipótese para a proteção de compostos antioxidantes pelas sementes de oleaginosas é que tais sementes devem proteger seu óleo contra a oxidação por meio da posse de antioxidantes efetivos. É uma realidade assumir que quanto mais insaturada for a semente oleaginosa, mais potente é o poder dos componentes antioxidantes (SHAHIDI, 1997).

Não há um solvente único adequado para a extração e isolamento de todos os antioxidantes devido à diversidade de sua natureza química. A solubilidade destes compostos químicos em solventes aquosos é esperada porque é um fator requerido para a atividade antioxidante na célula assim como em alimentos que contenham lipídios. Portanto, o uso de solventes polares como etanol e metanol para a extração de antioxidantes de sementes de oleaginosas é praticado comumente. A extração repetida por um longo tempo (12-18h) é recomendada, algumas vezes em elevadas temperaturas (45-65°C), quando pode ocorrer perda de compostos antioxidantes. É necessário remover qualquer lipídio presente em tecido de plantas para a extração efetiva destes compostos. Entretanto, há uma exceção para os tocoferóis, fosfolipídios e outros compostos lipofílicos que são geralmente extraídos por solventes não polares devido a sua natureza não polar. O extrato sempre contém uma mistura de diferentes compostos químicos e por isso, é necessário fazer a purificação para remover substâncias não desejáveis (SHUKLA *et al.*, 1997).

Dependendo da matriz da amostra, a extração de tocoferóis deve ser feita por meio de saponificação ou diretamente com solvente. Alguns óleos podem ser diluídos somente em hexano ou na fase móvel e assim, injetado (EITENMILLER e LEE, 2004).

Os métodos químicos são mais fáceis e rápidos. A extração pode ser realizada diretamente através de um solvente orgânico com ou sem aquecimento em extrator Soxhlet (BALL, 1988) ou ainda, com saponificação da amostra. O tocoferol é insolúvel em água, mas solúvel em etanol, éter, clorofórmio, acetona e óleos vegetais.

Em extração com solventes orgânicos como o hexano e éter etílico, a vitamina E é extraída junto aos triglicerídeos, fosfolípidios, esteróides e outras vitaminas lipossolúveis. O éter etílico tem a vantagem de não formar emulsão apesar de extrair mais interferentes (BOURGEOIS, 1992; RUPÉREZ *et al.*, 2001).

Para a obtenção dos óleos vegetais, o processo de extração se dá através da prensagem seguida de solventes, o mais utilizado o n-hexano, é extremamente tóxico. Para cada tonelada de grão processado, cerca de 2L de solvente são perdidos para o meio ambiente, causando um grande prejuízo ambiental, pois tal ação é uma das maiores causas do efeito estufa (FREITAS *et al.*, 2007).

Recentemente, óleos prensados de sementes de oleaginosas a frio têm sido comercializados. Este tipo de prensagem pode reter maior quantidade de componentes benéficos à saúde como os antioxidantes naturais e apresenta a grande vantagem de não ocorrer contaminação química. A prensagem a frio não envolve calor ou tratamentos químicos e é um interessante substituto aos métodos convencionais por garantir o desejo do consumidor por um produto natural, além da segurança do produto (YU *et al.*, 2005).

A atividade antioxidante de extratos de oleaginosas ou compostos isolados pode ser estimada quantitativamente através da determinação de produtos primários ou secundários da oxidação lipídica. Estudos em alimentos podem ser conduzidos através de condições de armazenamento ou sob oxidação acelerada como o método de oxigênio ativo (AOM), absorção e liberação de oxigênio, bomba calorimétrica de oxigênio, Rancimat ou Estabilidade Oxidativa Instrumental (OSI). A extensão do período de indução através da adição de um antioxidante tem sido relatada para a eficiência antioxidante que é algumas vezes expressa como índice antioxidante ou fator de proteção (SHUKLA *et al.*, 1997).

Os métodos espectrofotométricos determinam na faixa do ultravioleta (297-298 nm) a presença de tocoferóis. Tem o uso limitado devido aos baixos valores de absorvidade e

possível presença de interferentes, sendo recomendada a aplicação em amostras puras e concentradas.

A Cromatografia a Gás (CG) começou a ser utilizada na década de 60 para análise de tocoferóis, porém esta técnica requer derivação a compostos voláteis fazendo com que as amostras passem por etapas pré-cromatográficas muito trabalhosas.

Atualmente o método mais comum utilizado para análise de tocoferóis é o HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Tal análise mostra-se mais eficiente quando comparada aos outros métodos cromatográficos por sua grande flexibilidade e aplicabilidade a diferentes matrizes de amostras de alimentos, produtos farmacêuticos, etc.

Por HPLC, a coluna cromatográfica de fase reversa apresenta uma boa reprodutibilidade quanto ao tempo de retenção, rápido equilíbrio e robustez da coluna. O δ -tocoferol é eluído primeiro, seguido pelo dimetil substituídos β - e γ -tocoferol que são muito difíceis de serem separados e por último o α -tocoferol. A fase móvel mais utilizada em fase reversa é o metanol puro ou misturas de metanol-água, com até 10% de água. Há ainda outras misturas utilizadas.

A separação dos tocoferóis em coluna de fase reversa tem como vantagem o equilíbrio rápido e o tempo de análise curto, além da alta reprodução e como desvantagem a impossibilidade de separar os isômeros β e γ tocoferóis (CERT *et al.*, 2000).

As colunas de fase normal separam os isômeros β e γ -tocoferol e tocotrienóis e apresentam as vantagens de se trabalhar com solventes orgânicos permitindo alta solubilidade de lipídios, com alta concentração de lipídios e prover ampla faixa de seletividade com o uso de diferentes modificadores polares na fase móvel.

Na separação de compostos tocol, os eluentes usados são compostos por um alcano como hexano, heptano, iso-octano com uma pequena quantidade de modificador polar que pode ser um álcool como etanol, metanol, butanol, um éter ou um clorohidrocarboneto como diclorometano e clorofórmio.

O detector mais utilizado nas determinações de tocoferóis e tocotrienóis é o de fluorescência, devido a sua maior especificidade. Porém, o detector UV também é utilizado por alguns autores (SILVA, 2003).

Em 1980 Parrish publicou primeiros estudos envolvendo HPLC e vitamina E, citando que tal método apresentava vantagens sobre os outros como CG. Para análises em CG é necessário obter grande quantidade de pureza no extrato quando se trabalha com produtos

contendo baixa quantidade de tocoferóis. Além disso, as extrações feitas antes do CG eram tantas, que poderia perder grande parte de vitamina E (EITENMILLER e LEE, 2004).

O primeiro passo para selecionar o melhor método a ser utilizado é primeiramente definir o objetivo das análises e conhecer a amostra. Depois, delinea-se o que deverá ser analisado. Com exceção da vitamina E presente em óleos, que pode ser diretamente injetada no HPLC após a diluição, é necessário se extrair a vitamina da matriz da amostra e em muitos casos, concentrá-la (RUPÉREZ *et al.*, 2001).

Segundo PYKA *et al.* (2001), α -tocoferol e γ -tocoferol são os homólogos mais comuns de vitamina E presentes na alimentação humana.

A separação dos isômeros α , β , γ , δ é um problema discutido em vários trabalhos publicados. O γ tocoferol foi identificado há 24 anos atrás por densidade ótica através da reação de Emmerie-Engel (LAMBERSTEN *et al.*, 1962; RIKHTER, 1981).

Devido à estrutura muito parecida, a separação dos 4 isômeros por cromatografia trouxe muito interesse em diversos campos da pesquisa. Estes componentes foram separados com sucesso por HPLC de fase normal por ABIDI e MOUNTS (1996), apesar das dificuldades encontradas nesta técnica como o uso de solventes orgânicos voláteis e tóxicos, a necessidade de longo tempo de equilíbrio, além da incompatibilidade das fases móveis não aquosas com interferentes usados na detecção eletroquímica de tocoferóis (ABIDI e MOUNTS, 1997). Recentemente, alguns trabalhos descreveram que com a coluna PFPS (pentafluorophenyl-bonded sílica), a separação do β e γ tocoferol se mostrou satisfatória (RICHEIMER *et al.*, 1994).

Tal problema pode ser explicado pela química, mais precisamente na relação entre a molécula e suas propriedades físicas, químicas e biológicas. PYKA *et al.* (2001) estudaram as diferentes técnicas de separação de α , β , γ , δ tocoferóis: CG, HPLC em fase reversa, fase normal e HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography) em fase reversa. Observou-se que β e γ tocoferol não se separaram quando analisado por HPLC em fase reversa. A explicação para tal fato, segundo o trabalho, deve-se ao mesmo valor numérico do índice topológico, $^{\circ}B$. Investigações continuam sendo desenvolvidas sobre a relação do índice topológico e dados cromatográficos. Pesquisas devem ser desenvolvidas mais direcionadas e concentradas em um novo parâmetro estrutural (índice topológico), o qual poderá diferenciar melhor a isomeria do β e γ tocoferóis.

ABIDI e MOUNTS (1997) descreveram a primeira separação bem sucedida de β e γ tocoferóis em fase reversa, com coluna ODS, além da fase ODPVA. Os solventes usados na cromatografia de fase reversa são mais aceitáveis ao meio ambiente do que os da fase normal.

YAO *et al.* (1992) quantificaram os tocoferóis presentes em diferentes nozes pecãs e acompanharam suas mudanças durante o armazenamento, correlacionando tocoferóis, cor da amêndoa e análises de dienos e trienos. As análises de tocoferóis foram feitas através de cromatografia em fase normal e detector de fluorescência. Foi possível identificar e quantificar beta tocoferol. O γ tocoferol foi o isômero mais predominante em todos os cultivares de pecãs. Dienos conjugados aumentaram com o passar do tempo de armazenamento, o que coincidiu também com a mudança da cor, para mais escura, e diminuição de tocoferóis, principalmente o γ tocoferol.

3.4. Embalagens

A embalagem é parte integral da indústria de alimentos e está se tornando cada vez mais significativa na economia do país. Das embalagens produzidas, cerca de 70% são destinadas ao mercado de bebidas e alimentos. O mercado atual exige qualidade, por isso cresce igualmente a necessidade de fazer embalagens mais adequadas, convenientes e competitivas (ABRE, 2007).

A industrialização e o desenvolvimento da embalagem possibilitam a redução da perda de alimentos, o aproveitamento de subprodutos industriais, o aumento da segurança alimentar e a popularização de produtos antes restritos a algumas parcelas da sociedade. Entretanto, ainda se perde muito alimento por falta de embalagem em nosso país.

A perda de produtos por falha ou pelo não uso de embalagem traz conseqüências negativas para o Meio Ambiente. A energia usada para produção de alimentos (plantação, criação, pesca, processamento, industrial), é bem maior que a energia necessária para a produção das embalagens usadas para conservar o produto e permitir sua distribuição e consumo (ABRE, 2007).

De acordo com a pesquisa setorial ABRE/FGV (2007), para muitos produtos a embalagem é o seu símbolo. As embalagens apresentam uma ampla variedade de formas, modelos e materiais e fazem parte da vida diária. O produto deve ser planejado com a

embalagem, que por sua vez, deve ser definida com base na engenharia, marketing, comunicação, legislação, economia e inovação.

Aprimoramentos na conveniência de uso, aparência, possibilidade de reaproveitamento, volume, peso, portabilidade, características de novos materiais são itens que promovem a modificação da embalagem de forma a adequá-la ao processamento moderno, reciclagem de lixo e estilo de vida. E mais, para alguns produtos, o design, a forma e a função da embalagem podem ser quase tão importantes quanto seu conteúdo. Os padrões gráficos numa embalagem moldam a personalidade dos produtos, principalmente aqueles de distribuição em massa exibidos nas prateleiras, os quais freqüentemente enviam mais mensagens do que algumas exposições publicitárias. Esta é uma razão pela qual é importante dar tanta atenção à embalagem quanto ao produto. A embalagem faz a propaganda (ABRE, 2007).

Há uma série de fatores que influenciam o *shelf life* do produto durante a cadeia produtiva: a seleção e qualidade da matéria-prima, a formulação do produto, condições do ambiente, técnicas de preservação e processamento, embalagem, armazenamento e distribuição até chegar ao consumidor (ABRE, 2007).

Avanços nas técnicas e materiais de embalagem disponibilizaram mais opções para manutenção da qualidade e aumento do *shelf life*. Além da preservação físico-química, a embalagem tem como função a segurança alimentar, atrair o público através do marketing do produto, aliando fatores economicamente viáveis e um menor impacto ao meio ambiente.

A embalagem deve manter o oxigênio fora da embalagem, ou impedir ao máximo sua absorção pelo alimento protegido, com exceção das carnes frescas onde o oxigênio é importante para desenvolver e manter o brilho e a cor vermelha que está associada pelo consumidor diretamente ao frescor. As embalagens com atmosfera modificada consistem da substituição do ar no “headspace” por gás carbônico ou nitrogênio ou ainda uma mistura especial de gases (ABRE, 2007).

A luz pode acelerar a oxidação em alimentos ricos em lipídios, deixando-os rançosos. A embalagem com certa barreira à luz, através de sua composição, retarda e pode até evitar alguns produtos da degradação lipídica.

Um método comum de conservação de alimentos é a redução de O_2 da atmosfera de armazenamento através do vácuo ou substituição por nitrogênio ou CO_2 . A concentração dos gases deve ser de acordo com cada tipo de alimento (MASKAN e KARATAS, 1998).

A aplicação de vácuo pode ser considerada um método de modificação ativa de atmosfera ativa (FLOROS, 1990). O propósito para tal aplicação é reduzir o oxigênio residual do headspace da embalagem, retardando assim, as reações de oxidação e crescimento aeróbico microbiano. Quando o vácuo é usado em embalagens flexíveis, o material que compõe a embalagem colapsa com o conteúdo do material embalado e praticamente não há *headspace* (FLOROS e MATSOS, 2005). Este método não pode ser aplicado a alimentos sensíveis como batata frita e algumas frutas. É comum ser usado para nozes que são robustas o suficiente para agüentar a pressão e o café em pó e em grãos, que podem ser comprimidos. O inconveniente de tal embalagem é a sua abertura.

Outras propriedades importantes dessas embalagens a vácuo são a baixa permeabilidade ao vapor d'água (para evitar desidratação superficial, com conseqüente perda de peso, descoloração e necessidades de aparas), barreira a aromas, alta resistência mecânica (para resistir às solicitações de manuseio e transporte), excelentes características de soldabilidade (a fim de evitar vazamento e conseqüentemente perda de vácuo), boa maquinabilidade, boas características de impressão e custo compatível com a aplicação (HEROBETTA, 2007).

Como vantagens, a embalagem a vácuo permite economia de dinheiro, redução do encolhimento de alguns produtos. Não há perda por mofo ou evaporação numa embalagem selada a vácuo, e, portanto o peso que for embalado será aquele de venda (HEROBETTA, 2007).

A embalagem com atmosfera modificada aumenta de 2 a 10 vezes o *shelf life*. Nozes, amêndoas, avelãs e castanhas são exemplos de produtos que permanecem anos conservados em embalagens com atmosfera modificada (KILCAST e SUBRAMANIAM, 2000)

MASKAN e KARATAS (1998) estudaram as mudanças ocorridas em pistache armazenado em temperatura ambiente em embalagens com ar e 98% de CO₂, verificando a composição em ácidos graxos, peróxidos e ácidos graxos livres. A embalagem com atmosfera modificada demonstrou ser mais estável, o que pode ser atribuído à solubilidade do gás carbônico na porção líquida e lipídica do pistache, agindo assim como uma barreira na interface óleo/água e diminuindo a ação do oxigênio. Somente após o terceiro mês de armazenamento, diferenças significativas foram observadas.

A embalagem flexível rígida o suficiente para manter-se na vertical, conhecida como Stand-Pouch, é hoje em dia cada vez mais aplicada em alimentos, produtos naturais, doces,

grãos, condimentos, *pet foods*, insumos farmacêuticos, fármacos, produtos veterinários, químicos, dentre outros (EMBRANEWS, 2001).

Consumidores desejam um alimento seguro e para assegurar tal qualidade, o sistema de embalagem é muito importante. Embalagens com substâncias naturais ativas como antimicrobianos ou antioxidantes são comercialmente aplicadas, seguindo a legislação de cada país (LEE, 2005; HARRISON e WERE, 2007).

Os consumidores procuram alimentos convenientes para seu estilo de vida, sem tempo para nada. Há mais interesse na qualidade do que na quantidade de alimentos da dieta devido a grande preocupação com a saúde. A demanda pelo natural e fresco, sem adição de substâncias químicas perigosas cresceu dramaticamente. As embalagens com atmosfera modificada parecem ser o melhor método de preservação de muitos alimentos por estender o *shelf life* dos produtos significativamente, sem afetar suas características. Hoje, estas embalagens ocupam um grande espaço na indústria alimentícia e tem sido mais importante do que o congelamento e enlatados combinados (FLOROS e MATSOS, 2005).

Em estudo desenvolvido por HOLLADAY (1979), pecãs cruas e tostadas foram embaladas em sacos plásticos de nylon e sob atmosfera de dióxido de carbono e de etileno vinil acetato (EVA) e armazenadas ao ambiente. Após 6 semanas, o aroma das pecãs *in natura* comparado com as testemunhas estava melhor, considerando que foram armazenadas a 1,7°C e 65% de umidade relativa. Ao fim de 27 semanas de armazenamento, as pecãs tostadas e não tostadas estavam semelhantes as testemunhas. Em tratamentos submetidos a longos períodos, os tratamentos apresentaram-se inferiores à testemunha (RIBEIRO *et al.*, 1993).

Com o descascamento ou quebra da casca, as amêndoas das castanhas ficam expostas diretamente ao ar, facilitando as degradações oxidativas. Somente quando armazenadas sob atmosfera controlada de oxigênio e sob temperaturas de 18,5°C e 27°C, a qualidade pode estar garantida por um período maior. Além disso, a umidade relativa deve ser inferior a 70% para que por 8 meses alterações indesejáveis não ocorram. Se armazenadas com umidade relativa superior a 80% e em temperaturas de 26°C a 28°C, há condições suficientes para que ocorra crescimento fúngico na superfície das amêndoas, além do aumento de acidez do óleo, proporcional ao crescimento dos micélios (RIBEIRO *et al.*, 1993).

A estabilidade de castanhas-do-pará descascadas foi estudada sob envase em latas sob 3 condições de atmosfera (ar, ar + absorvedor de oxigênio e nitrogênio) e em bandejas de polipropileno cobertas com filmes de cloreto de polivinila, estocadas à temperatura ambiente por

12 meses. As castanhas embaladas com ar apresentaram aumento mais pronunciado na acidez e índice de peróxidos. A presença de absorvedores de O_2 retardou a deterioração oxidativa e manteve os índices de peróxidos mais baixos que em atmosfera de N_2 . A estocagem em latas com absorvedores de O_2 foi a melhor forma de preservar sua qualidade. As castanhas embaladas em bandejas de PP (polipropileno) recobertas com filme PVC foram consideradas inadequadas para consumo após 2 meses de estocagem (RIBEIRO *et al.*, 1993).

Em nozes em pedaços ocorre rápida e gradual absorção de oxigênio durante armazenamento. Os antioxidantes naturais ofereceram pouca proteção contra a autooxidação, principalmente quando a película das nozes foi quebrada ou soltou-se (RIBEIRO *et al.*, 1993).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

O granulado é a torta triturada de castanhas-do-pará, produto da prensagem a frio em prensas tipo Expeller (**Figura 5**). Para este estudo, o granulado foi cedido pela Ouro Verde Agroflorestal localizada em Alta Floresta-MT e fracionado em embalagens Stand-Pouch de 300g com zíper, de dimensão 14cm (largura) X 22,5 cm (altura) no Laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria Alimentos e Nutrição da ESALQ-USP, conforme ilustrado nas **Figuras 6 e 7**.



Figura 5: Granulado de castanha-do-pará

Foram utilizados dois tipos de embalagens: uma parcialmente transparente e outra metalizada. As duas embalagens levaram etiquetas, simulando um rótulo de produto a ser comercializado e armazenado em prateleiras de supermercados. Cada embalagem foi selada e continha 300g do granulado.



Figura 6: Amostras dos tratamentos 1 e 2, respectivamente.



Figura 7: Amostras dos tratamentos 3 e 4, respectivamente.

Metade das embalagens transparentes e metade das embalagens totalmente aluminizadas foram submetidas ao vácuo após a pesagem dos granulados. Desde então, o experimento foi composto por quatro tratamentos:

Tratamento 1: 36 embalagens transparentes, sem vácuo (**Figura 6**);

Tratamento 2: 36 embalagens metalizadas, sem vácuo (**Figura 6**);

Tratamento 3: 36 embalagens metalizadas, a vácuo (**Figura 7**);

Tratamento 4: 36 embalagens transparentes, a vácuo (**Figura 7**).

As embalagens foram armazenadas em prateleiras sob temperatura ambiente e luminosidade indireta com lâmpadas fluorescentes mantidas acesas de forma intermitente (12 horas de claro e 12 horas de escuro), simulando gôndolas de supermercado como na **Figura 8**.



Figura 8: Armazenamento das amostras.

O ensaio foi conduzido em triplicata no esquema fatorial, modelo inteiramente casualizado, considerando as diferentes embalagens e período de amostragem. Foi realizada análise de variância e aplicado teste de Tukey para médias das análises realizadas.

4.2. Métodos

4.2.1. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no óleo e no granulado no laboratório de Óleos e Gorduras do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ-USP em um período de 6 meses.

4.2.1.1. Prensagem

O granulado de cada embalagem foi prensado a frio separadamente em prensa hidráulica Fred S. Carver (**Figura 9**), sob pressão máxima de 20.000 Lbs, por 45 minutos, até o esgotamento de óleo do granulado. Em seguida, filtrou-se em papel de filtro 18,5 cm de diâmetro e armazenou-se em embalagens de vidro âmbar, mantidas sob refrigeração. A partir deste óleo, realizaram-se as análises físico-químicas.



Figura 9: Prensa hidráulica Fred S. Carver

4.2.1.2. Teor de óleo

O teor de óleo foi determinado para o granulado em extrator Soxhlet, segundo o método descrito em Ac 3-44 (AOCS, 2003).

4.2.1.3. Umidade

Foi pesado em placa de Petri, um grama de amostra de granulado de castanha-do-pará no início do tratamento e levada a estufa por 12 horas a $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Realizou-se a primeira pesagem e assim sucessivamente até peso constante (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985).

4.2.1.4. Índice de peróxido

Foi realizado por meio do método Cd 8b-90 (AOCS, 2003), aplicável a todos os óleos e gorduras. Tal método determina todas as substâncias (meq de peróxidos/kg de amostra) que oxidam o iodeto de potássio, sendo estas assumidas como peróxidos ou outros produtos similares da oxidação lipídica.

Foi pesado 3g de granulado de castanha em frasco de iodo de 125mL. Adicionou-se 50mL de solução de iodeto de potássio saturada e água destilada e posterior adição de goma de amido para a titulação com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N. O volume utilizado na titulação designou a concentração em peróxidos em meq O_2 /kg de amostra através da fórmula:

$$\text{IP} = \frac{\text{N} \times (\text{a}-\text{b})}{\text{massa da amostra (g)}} \times 1000$$

N = normalidade da solução de tiosulfato de sódio

a = volume gasto na titulação (mL)

b = volume gasto na titulação da testemunha (mL)

O índice de peróxido tem significado limitado para quantificar as propriedades organolépticas de farinhas oleaginosas, uma vez que o ranço é causado por produtos

resultantes da degradação de peróxidos originados da oxidação de ácidos graxos e não pelos próprios peróxidos. Neste caso, nada como o painel de provadores para identificar tais propriedades dos produtos. Apesar disso, o índice de peróxido é muito eficiente para identificar um produto bom para consumo a partir de seus dados iniciais (PRADO-FILHO, 1994).

4.2.1.5. Acidez

É o número de mg de KOH necessários para neutralizar os ácidos graxos livres contidos em 1g de amostra, segundo o método Ca 5a-40 (AOCS, 2003). Dissolveu-se 5g de óleo prensado do granulado de castanha-do-pará em álcool etílico aquecido e em seguida, titulou-se com solução de hidróxido de sódio (NaOH) padronizada. Foi adicionado fenolftaleína para indicar o ponto de viragem. O índice de Acidez foi obtido em mg KOH/g óleo através da fórmula:

$$IA = \frac{V \times 56,1 \times N}{\text{massa da amostra (g)}}$$

N = Normalidade da solução de NaOH

V= Volume gasto na titulação da amostra

4.2.1.6. Absorbância específica

De acordo com o método Ch 5-91 (AOCS, 2003) que determina a absortividade de óleos e gorduras no espectro UV, indicando sua pureza e deterioração. A amostra de óleo foi diluída em isoctano para a leitura da absorbância entre 232 nm e 270 nm. Foram utilizados balões de 25 ou 50 mL, dependendo do estado oxidativo do óleo. A determinação da absorbância a 232 nm pode teoricamente indicar o estado de oxidação da gordura e na faixa compreendida entre 268 e 283 nm estão os produtos de oxidação e trienos conjugados.

A absortividade do óleo é registrada em determinados comprimentos de onda do espectro ultravioleta, fornecendo seu grau de oxidação, já que os produtos desta reação são

determinados a 232 nm (dienos conjugados) e 270 nm (trienos conjugados ou compostos secundários) (FERRARI e DE SOUZA, 2009).

O espectrofotômetro utilizado foi Shimadzu, modelo UV 1203, sendo os resultados expressos em absorvidade pela fórmula:

$$E_{nm} = A/(c.d)$$

E= extinção específica ou absorvidade no comprimento de onda (nm)

A=absorbância registrada no comprimento de onda utilizado

c=concentração (g/100mL) da solução da amostra

d=largura da cubeta utilizada (cm)

4.2.2. Tocoferóis e ácidos graxos

No laboratório de Bioquímica do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ-USP, as análises cromatográficas foram realizadas em HPLC para identificação de tocoferóis e em CG para determinação e quantificação de ácidos graxos no óleo.

4.2.2.1. Extração

Os tocoferóis presentes no granulado foram extraídos segundo COSTA (2007). Pesou-se 0,4g de óleo obtido através da prensagem do granulado em um vidro âmbar de 10mL com tampa. Em seguida, adicionou-se 4mL de uma mistura de isopropanol:clorofórmio 75:25 v/v e ocorreu a homogeneização através de agitação (COSTA, 2007).

4.2.2.2. Análise cromatográfica

Para análise das amostras empregou-se o método AOCS Ce 8-89 e o otimizado por COSTA (2007), com algumas modificações. Utilizou-se um cromatógrafo a líquido Shimadzu com sistema integrado, com detector DAD SPD-M10A e injetor automático SIL-10AF. A separação foi realizada em coluna de fase reversa C18 REGIS-Rexchoron S5-100-ODS de 25cm x 4,6mm I.D x 5 µm, mantida em temperatura constante de 30°C. Como fase móvel

empregou-se uma mistura metanol:água 97:3 v/v e eluição isocrática com vazão de fase móvel 0,8 mL/min e volume de injeção de 10 µL. A detecção foi feita em 295 nm. A quantificação foi realizada pelo método do padrão externo, empregando-se soluções-padrão de tocoferóis com concentrações variando de 10 mg/L a 100mg/L. A identificação foi feita comparando-se os tempos de retenção obtidos para as amostras e os padrões, bem como os respectivos espectros de absorção.

4.2.3. Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos é importante, pois pode favorecer o desenvolvimento de rancidez oxidativa se sua composição apresentar grande quantidade de ácidos graxos insaturados como o oléico (C18:1); linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3) (FERRARI e DE SOUZA, 2009).

4.2.3.1. Extração

Previamente foi realizada a metilação do óleo resultante da prensagem do granulado a ser analisado segundo a metodologia descrita em Ce 1b-89 (AOCS, 2003) com modificação do preparo dos ésteres metílicos segundo HARTMAN & LAGO (1973).

4.2.3.2. Análise cromatográfica

Os ácidos graxos foram determinados utilizando-se um cromatógrafo a gás (HP 5890), equipado com uma coluna capilar DB-23, 60m x 0,25mm x 0,2µm e detector de ionização em chama (FID). A programação de temperatura foi de 130°C (1,0 min) a 170°C (6,5°/min), 170°C a 215 °C (2,75°C/min), 215 °C (12 min), 215 °C a 230 °C (40 °/min), 230 °C (3 min). As temperaturas do injetor e detector foram de 270°C e 280°C, respectivamente. Injetou-se 0,3 µL de cada amostra através de injeção direta.

Ácidos graxos de 16 (cis e trans), 18 (cis e trans) e 20 átomos de carbono, saturados e insaturados, foram identificados comparando-se os tempos de retenção obtidos para as amostras com os das soluções-padrão. Empregaram-se padrões SIGMA diluídos em hexano.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Teor de óleo

O granulado apresentou teor de óleo entre 51,09 - 52,06%. Tal valor encontrado significa que o granulado analisado veio de uma prensagem parcial sendo uma torta triturada e por isso apresentou óleo.

O teor de óleo em massa seca foi de 54,31%, valor mais alto se comparado com outros estudos em que se trabalhou com a torta de castanha-do-pará apresentando 25,13% de óleo (SOUZA e MENEZES, 2004).

5.2. Umidade

O teor de umidade absoluta encontrado no granulado de castanha-do-pará no início do tratamento foi de 5,23%, valor muito próximo ao encontrado por GLÓRIA e REGITANO-D'ARCE (2000) de 4,5% em torta de castanha-do-pará.

5.3. Acidez

A acidez encontrada nos granulados de castanha-do-pará analisados neste trabalho está representada na **Figura 10**. O índice de acidez não variou durante os seis meses de análise, ou seja, não houve diferença significativa entre os resultados, conforme apresentado na **Tabela 3**.

Durante os 4 meses de experimento em que as amostras foram embaladas em sacos de papel Kraft armazenadas a 2°C e -15°C, RIBEIRO *et al.* (1993) encontraram valores de acidez próximos ao inicial (0,13 mg KOH/g). As castanhas armazenadas com casca ao ambiente tiveram sua acidez triplicada no primeiro mês, atingindo valores próximos a 0,5mg KOH/g. As

castanhas sem casca armazenadas ao ambiente atingiram valores de acidez até 10 vezes maior do que aquelas com casca, atingindo 2mg KOH/g.

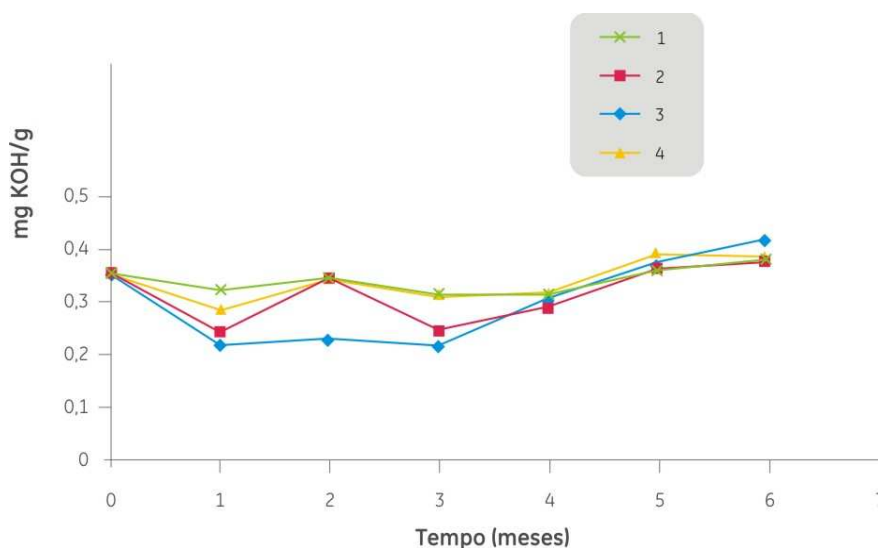


Figura 10: Índice de acidez (mg KOH/g) do granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses.

Tabela 3: Índices de acidez (mg KOH/g) da fração lipídica de granulado de castanha-do-pará durante 6 meses de armazenamento.

TEMPO (meses)	TRATAMENTOS			
	1	2	3	4
0	0,36±0,1	0,36±0,1	0,36±0,1	0,36±0,1
1	0,33±0,03	0,24±0,03	0,22±0,1	0,29±0,04
2	0,35±0,01	0,35±0,01	0,23±0,01	0,35±0,01
3	0,32±0,03	0,25±0,01	0,22±0,1	0,32±0,03
4	0,31±0,004	0,29±0,02	0,30±0,03	0,31±0,003
5	0,36±0,01	0,36±0,01	0,37±0,01	0,39±0,04
6	0,38±0,02	0,38±0,01	0,42±0,02	0,38±0,01

Em análise de pasta de pistache armazenada em embalagem PP sem vácuo, as mudanças ocorreram entre o 49º e 113º dia nas amostras armazenadas em 4°C e após o 26º a 80º dia em amostras a 20°C (GAMLI e HAYOGLU, 2007). Já a pasta de nozes armazenada em embalagem a vácuo apresentou valores de peróxido maiores do que as outras amostras. Tal fato pode ser explicado pela possível penetração de oxigênio do ambiente através do material de embalagem a vácuo (GAMLI e HAYOGLU, 2007).

Em estudos conduzidos por SOUZA (1986), a farinha obtida da castanha foi armazenada por 120 dias em sacos de papel alumínio e colocados em caixas de papelão, armazenados em temperatura ambiente. A cada 30 dias, foram feitas análises físico-químicas e microbiológicas. A oscilação do índice de acidez (% em ácido oléico) foi constatada entre 0,23 a 0,32%, durante 90 dias, porém não foi significativa assim como os resultados encontrados neste trabalho em granulado.

Em 1976, pesquisadores da SUDAM (1976), verificaram que o índice de acidez em farinha de castanha-do-pará em sacos de papel Kraft-polietileno e algodão armazenados durante 8 meses em Campinas-SP, aos 2 meses de análise foi de 0,27%, o mesmo valor do estudo de SOUZA (1986).

5.4. Índice de peróxido

Os resultados de peróxido apresentados na **Figura 11** refletem as variações dentro do período experimental. Tal qual verificado com os valores de acidez, as amostras apresentaram-se bastante estáveis em relação à oxidação como observado na **Tabela 4**.

FREITAS *et al.* (2007) encontraram em castanhas embaladas em sacos plásticos e armazenadas em local escuro, livre de umidade entre 20°C e 22°C, valores de peróxido variando entre 0 e 0,273 meqO₂/kg, o que significa a preservação da qualidade de suas amostras de durante armazenamento.

RIBEIRO *et al.* (1993) detectaram os mais altos índices de peróxido nas castanhas armazenadas ao ambiente, com 0,75 meqO₂/kg, que mesmo assim é bastante baixo e próximo ao desta pesquisa. O nível máximo de peróxido permitido em alimentos ricos em lipídios é de 10 meqO₂/1000g (GAMLI e HAYOGLU, 2007).

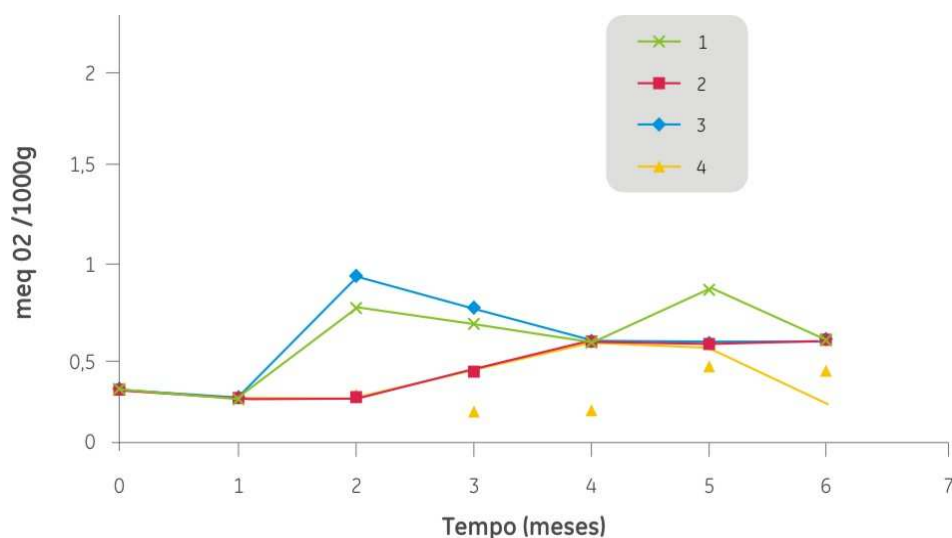


Figura 11: Índice de peróxido (meq O₂/1000g) de granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses.

Tabela 4: Índices de peróxido (meq O₂/1000g) de granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses.

TEMPO (meses)	TRATAMENTOS			
	1	2	3	4
0	0,36±0,2	0,36±0,2	0,36±0,2	0,36±0,2
1	0,32±0,01	0,32±0,01	0,33±0,01	0,31±0,01
2	0,79±0,14	0,32±0,01	0,94±0,03	0,31±0,01
3	0,7±0,2	0,46±0,01	0,78±0,01	0,46±0,02
4	0,6±0,03	0,61±0,02	0,61±0,02	0,6±0,01
5	0,88±0,05	0,59±0,2	0,62±0,02	0,58±0,02
6	0,61±0,2	0,62±0,2	0,61±0,03	0,62±0,01

Em SOUZA (1986), a farinha de castanha-do-pará armazenada durante 120 dias em sacos de papel alumínio fechados sob temperatura ambiente, teve o índice de peróxido crescente, apresentando 11,96meq/kg para o início do tratamento, 14meq/kg depois de 30 dias

e 29,66meq/kg aos 90 dias de experimento. Apesar desta variação, não foi observado odor de ranço.

SILVA (2002) descreveu em seu trabalho as análises realizadas durante 6 meses em castanhas secas por microondas e armazenadas em ambiente, embaladas a vácuo em sacos transparentes de polietileno de baixa densidade e selados. Observou que o índice de peróxido aumentou com o tempo, porém não atingiu o limite máximo tolerado para óleos brutos estipulado pela legislação brasileira que é de 20 meq O₂/kg.

5.5. Absortividade no UV

A absortividade na faixa do UV em 232 nm mede a isomerização da cadeia de ácido graxo nas duplas ligações, decorrente da oxidação e por isso, tem relação direta com o índice de peróxido conforme SHAHIDI (1995) e outros trabalhos que também comprovaram este fenômeno (ALMEIDA-DÓRIA, 1999; VIEIRA, 1998; SIQUEIRA, 1998; OLIVEIRA, 2003).

Analisando a **Figura 12**, pode-se dizer que as amostras submetidas a diferentes tratamentos apresentaram comportamentos semelhantes no período armazenado. Houve pequena variação no primeiro mês, o que não gerou grande impacto, já que não ocorreu diferença significativa estatisticamente, conforme apresentado na **Tabela 5**.

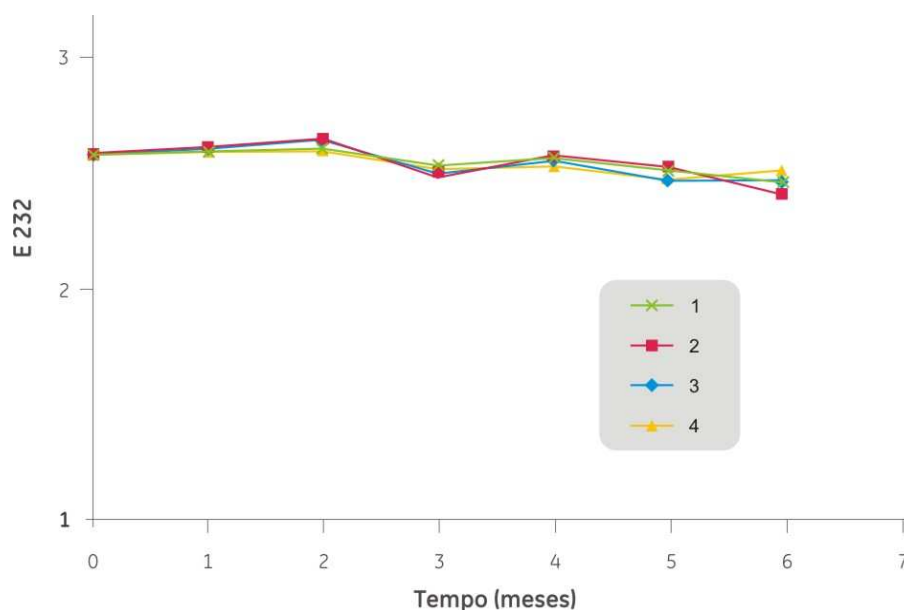


Figura 12: Absortividade em 232 nm da fração lipídica de granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses em diferentes embalagens.

Tabela 5: Absortividade em 232 e 270 nm para as amostras de granulado de castanha-do-pará armazenadas por 6 meses sob diferentes tratamentos.

TEMPO	TRATAMENTOS	232 nm	270 nm
0	1	2,57±0,24	0,19±0,04
	2	2,57±0,24	0,19±0,04
	3	2,57±0,24	0,19±0,04
	4	2,57±0,24	0,19±0,04
1	1	3,15±0,33	0,27±0,13
	2	2,78±0,26	0,23±0,05
	3	2,77±0,25	0,33±0,09
	4	2,93±0,45	0,27±0,08
2	1	2,60±0,02	0,16±0,01
	2	2,64±0,03	0,16±0,01
	3	2,63±0,02	0,16±0,01
	4	2,59±0,02	0,15±0,01
3	1	2,52±0,02	0,16±0,03
	2	2,49±0,10	0,14±0,01
	3	2,49±0,04	0,16±0,01
	4	2,52±0,03	0,15±0,02
4	1	2,56±0,02	0,16±0,01
	2	2,56±0,03	0,17±0,01
	3	2,54±0,06	0,17±0,02
	4	2,52±0,04	0,18±0,03
5	1	2,50±0,05	0,12±0,02
	2	2,52±0,06	0,12±0,02
	3	2,46±0,07	0,10±0,03
	4	2,47±0,04	0,11±0,02
6	1	2,45±0,20	0,07±0,02
	2	2,40±0,09	0,07±0,01
	3	2,45±0,20	0,07±0,01
	4	2,50±0,09	0,07±0,01

Acompanhando o índice de peróxido que não variou significativamente, o mesmo ocorreu com a absortividade em 232 nm, concluindo-se que não ocorreu oxidação significativa durante o tempo analisado.

Com a pequena presença de peróxidos em ensaio de RIBEIRO *et al.* (1993) com castanhas-do-pará com casca, os dados de absorção em 232 e 270 nm apresentaram oscilações, porém com valores próximos aos do início do experimento: E 232 nm variou entre 0,555 e 0,765 e E270 nm entre 0,05 e 0,098. As castanhas congeladas sem casca apresentaram-se estáveis durante 4 meses (E232 nm a 2,0) e para as castanhas sem casca apenas refrigeradas, pequenas elevações ocorreram nos três primeiros meses (E232 nm entre 2,0 e 3,0). Em 270 nm, houve maior presença de compostos menores nas castanhas descascadas o que apenas confirmou o estado mais avançado de oxidação nestas amostras, atingindo valores de E270 a 0,15. A reação primária de oxidação foi mais intensa nas castanhas mantidas ao ambiente.

A absorvidade em 270 nm indica a formação de trienos conjugados e de compostos secundários durante o processo de oxidação, proporcional à absorção de oxigênio no óleo (ROVELLINI *et al.*, 1997; PACHECO, 2005). Como se pode visualizar na **Figura 13**, quando a absorvidade foi de 270 nm, ocorreu uma grande oscilação de valores durante todo o período de armazenamento.

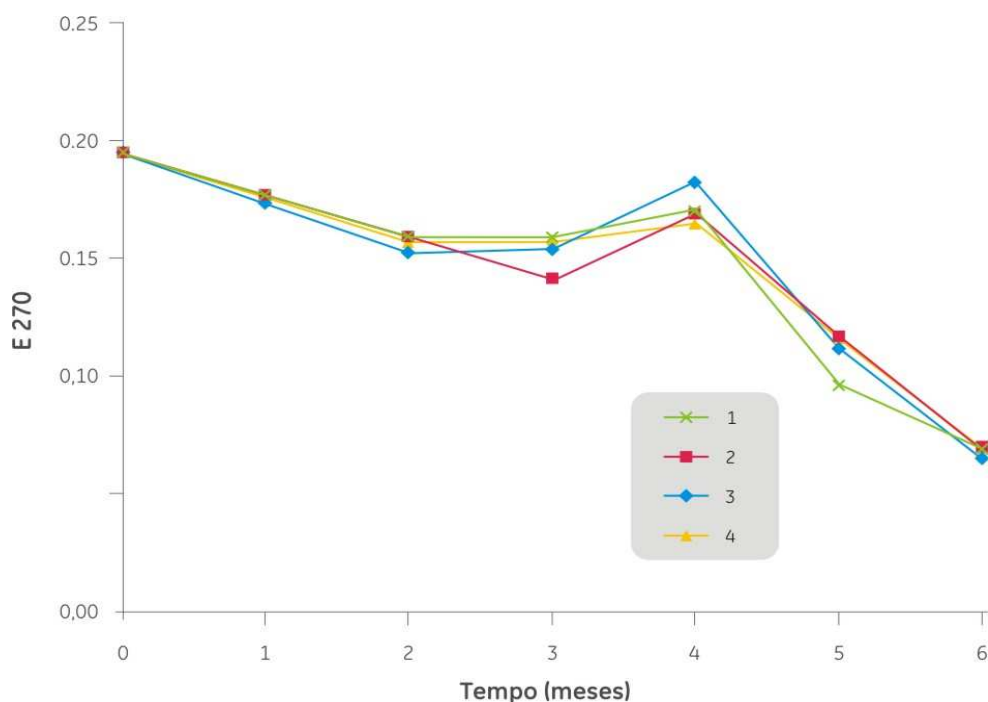


Figura 13: Absorvidade em 270 nm da fração lipídica de granulado de castanha-do-pará armazenado à temperatura ambiente durante 6 meses em diferentes embalagens

Com a absorvidade em 270 nm, acompanha-se a evolução dos compostos voláteis, pois como no caso da castanha-do-pará não há ácidos graxos tri-insaturados, (vide tabelas 2,3,4 e 5), não se detectam os trienos. Na qualidade de voláteis, a sua detecção pode resultar extremamente variável. O que se conclui com o último dado de análise, aos 6 meses, é que apesar destas alterações, ocorridas com o mesmo comportamento em todos os tratamentos, nenhuma das amostras apresentaram diferença comparadas ao início do tratamento.

5.6. Perfil de ácidos graxos

As **Tabelas 6, 7, 8 e 9** representam os perfis e porcentagem de ácidos graxos encontrados nos diferentes tratamentos durante o período armazenado. Observa-se que não houve alteração na composição lipídica das amostras, independente dos tratamentos e embalagens utilizadas durante os 6 meses de estudo.

Tabela 6: Composição(%) de ácidos graxos para o tratamento 1.

ÁCIDOS GRAXOS	TEMPO		
	0	3	6
Ác. Palmítico (C16:0)	15,43	16,05	16,06
Ác. Palmitoléico (C16:1)	0,22	0,09	0,57
Ác. Esteárico (C18:0)	12,67	10,99	10,92
Ác. Oléico (C18:1)	25,72	25,05	24,08
Ác. Linoléico (C18:2)	41,43	39,21	38,37
Ác. Araquídico (C20:0)	0,32	0,32	0,58
*N.I.	4,22	8,28	9,43
SATURADOS	28,42	27,37	27,56
MONOINSATURADOS	25,94	25,14	24,65
POLINSATURADOS	41,43	39,21	38,37

*N.I. = Ácidos graxos não identificados

Tabela 7: Composição(%) de ácidos graxos para o tratamento 2.

ÁCIDOS GRAXOS	TEMPO		
	0	3	6
Ác. Palmítico (C16:0)	15,43	15,53	17,26
Ác. Palmitoléico (C16:1)	0,22	0,31	0,31
Ác. Esteárico (C18:0)	12,67	11,73	11,67
Ác. Oléico (C18:1)	25,72	26,76	26,56
Ác. Linoléico (C18:2)	41,43	40,46	41,32
Ác. Araquídico (C20:0)	0,32	0,33	0,29
*N.I.	4,22	4,89	2,58
SATURADOS	28,42	27,59	29,22
MONOINSATURADOS	25,94	27,06	26,87
POLINSATURADOS	41,43	40,46	41,32

*N.I. = Ácidos graxos não identificados

Tabela 8: Composição(%) de ácidos graxos para o tratamento 3.

ÁCIDOS GRAXOS	TEMPO		
	0	3	6
Ác. Palmítico (C16:0)	15,43	16,71	16,24
Ác. Palmitoléico (C16:1)	0,22	0,31	0,29
Ác. Esteárico (C18:0)	12,67	11,84	11,85
Ác. Oléico (C18:1)	25,72	26,41	27,26
Ác. Linoléico (C18:2)	41,43	40,71	42,02
Ác. Araquídico (C20:0)	0,32	0,30	0,31
*N.I.	4,22	3,72	2,04
SATURADOS	28,42	28,86	28,40
MONOINSATURADOS	25,94	26,72	27,55
POLINSATURADOS	41,43	40,71	42,02

*N.I. = Ácidos graxos não identificados

Tabela 9: Composição(%) de ácidos graxos para o tratamento 4.

ÁCIDOS GRAXOS	TEMPO		
	0	3	6
Ác. Palmítico (C16:0)	15,43	16,12	16,71
Ác. Palmitoléico (C16:1)	0,22	0,39	0,33
Ác. Esteárico (C18:0)	12,67	11,81	11,62
Ác. Oléico (C18:1)	25,72	27,22	26,90
Ác. Linoléico (C18:2)	41,43	40,60	41,48
Ác. Araquídico (C20:0)	0,32	0,31	0,28
*N.I.	4,22	3,55	2,68
SATURADOS	28,42	28,24	28,61
MONOINSATURADOS	25,94	27,61	27,23
POLINSATURADOS	41,43	40,60	41,48

*N.I. = Ácidos graxos não identificados

Sabe-se que os alimentos que contêm ácidos graxos insaturados em alimentos estão mais susceptíveis à oxidação. O teor significativo de ácido linoléico em nozes em geral, é responsável pela oxidação. Em avelãs encontrou-se de 11,7 a 20% de ácido linoléico e a porcentagem de ácidos graxos insaturados foi de 91 a 92,5% enquanto que os saturados de 7 a 9% (BONVEHI e COIL, 1993).

Em MASKAN e KARATAS (1998), o ácido linolênico foi perdido em maior quantidade do que o linoléico durante a oxidação. A redução em ambos foi resultado do aumento de outros ácidos como o oléico.

Na **Figura 14** pode-se verificar o perfil dos ácidos graxos em CG. Todos os cromatogramas apresentaram as mesmas características e não houve diferença significativa. Na **Figura 15** pode-se verificar o cromatograma dos ácidos graxos do granulado de castanha-do-pará.

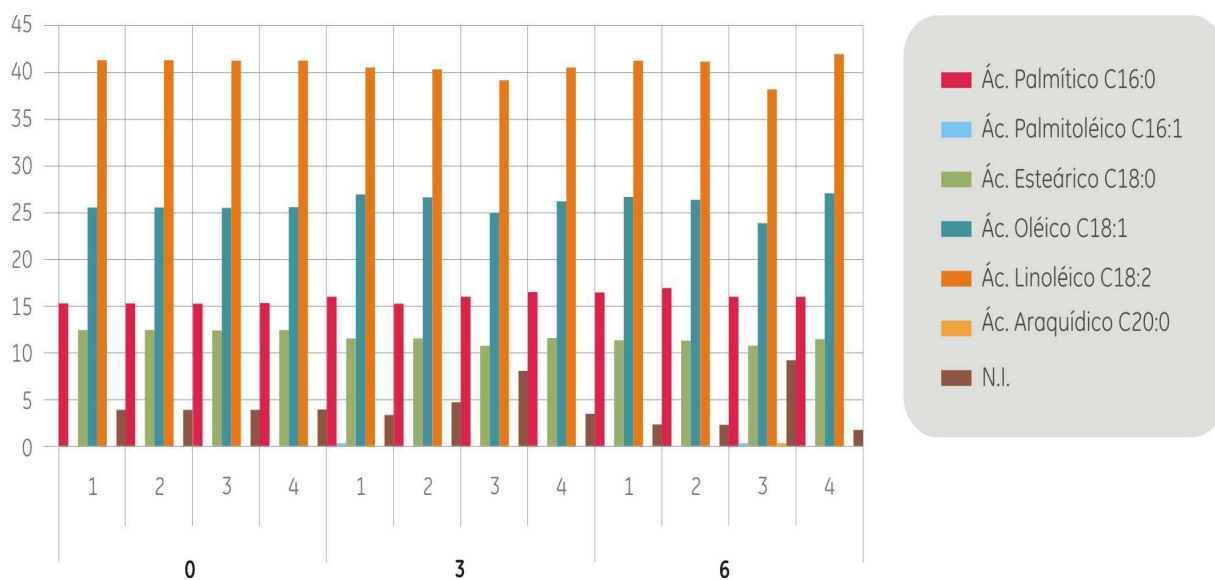


Figura 14: Perfil de ácidos graxos encontrados nas amostras durante o início do tratamento, após 3 e 6 meses de armazenamento.

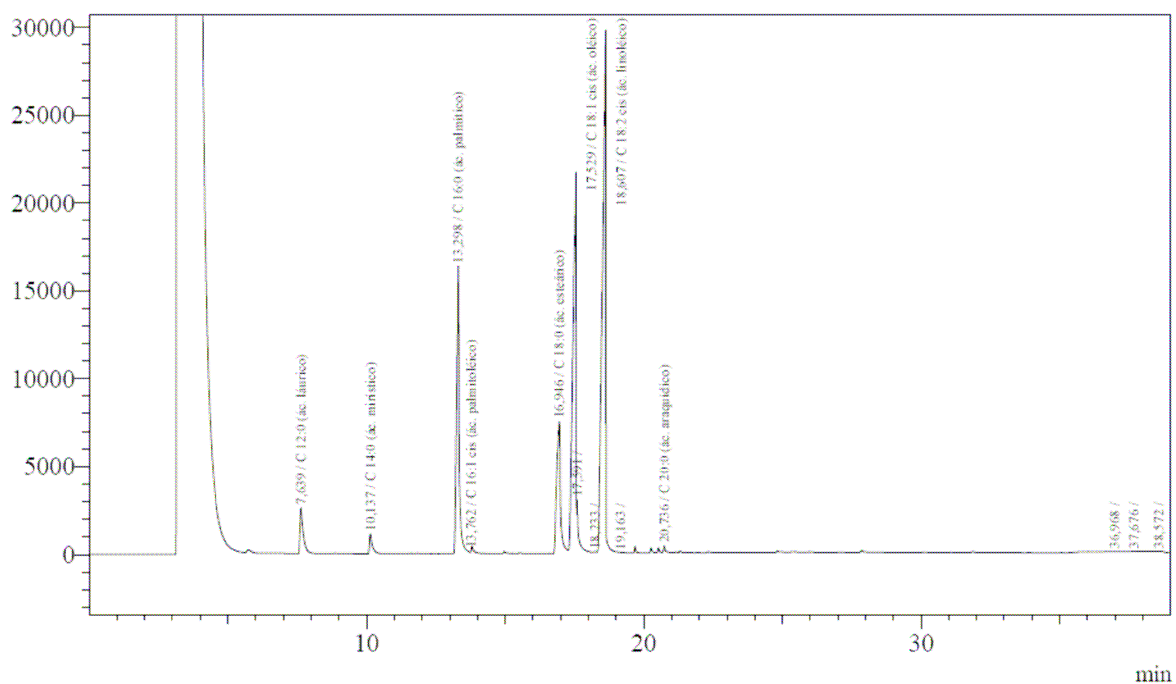


Figura 15: Cromatograma dos ácidos graxos do granulado de castanha-do-pará.

Coluna DB-23, 60m x 0,25mm x 0,2µm. Temperaturas: injetor 270°C e detector 280°C; gás de arraste H₂; volume de amostra injetado: 0,3 µL; detector FID.

5.7. Tocoferóis

Os α e β tocoferóis podem ser encontrados em todos os óleos de nozes em geral, inclusive a castanha-do-pará, sendo o alfa predominante em avelãs, amêndoas e pistache enquanto que o γ se destaca mais em pecãs, nozes e castanha-do-pará (MIRALIAKBARI e SHAHIDI, 2008).

Na **Tabela 10** encontram-se os valores de tocoferóis das amostras analisadas. Não houve diferença significativa entre as embalagens, o que se pode garantir que o produto se manteve estável. Os teores de tocoferóis totais variaram de 25,0 a 29,07 mg/100g, mais elevados quando comparados aos de COSTA (2007) que encontrou 15,28 mg/100g de tocoferóis totais através da identificação dos tocoferóis presentes em frutas e castanhas da região norte e nordeste do Brasil, incluindo a castanha-do-pará através dos espectros obtidos, já que algumas amostras apresentavam compostos desconhecidos com o mesmo tempo de retenção dos tocoferóis.

Tabela 10: Teor de tocoferóis (mg/100g) nos granulados de castanha-do-pará.

TEMPO	TRATAMENTOS	α	γ	δ	TOTAIS
0	1	4,54	19,59	0,87	25
	2	4,54	19,59	0,87	25
	3	4,54	19,59	0,87	25
	4	4,54	19,59	0,87	25
2	1	4,75	21,05	0,68	26,48
	2	4,57	20,37	0,64	25,58
	3	4,65	20,22	0,93	25,8
	4	4,81	21,01	0,84	26,66
4	1	5,04	22	0,78	27,82
	2	4,86	21,58	0,95	27,39
	3	4,73	20,91	1,13	26,77
	4	4,6	20,98	1,21	26,79
6	1	5,04	21,96	1,6	28,6
	2	6,94	21,07	1,06	29,07
	3	4,34	19,93	0,84	25,11
	4	4,93	21,21	1,1	27,24

A concentração de α tocoferol encontrados neste trabalho é muito próxima a que LIMA (1997) descreveu em óleo de castanha-do-pará, 2,5mg/100g enquanto que a de γ + β foi de 14,1 mg/100g, um pouco inferior quando comparada a deste experimento que teve uma variação de 19,59 a 21,96 mg/100g. Segundo BALL (1988), o óleo de castanha-do-pará contém 6,5 mg/100g de α tocoferol e 11,0 mg/100g de γ tocoferol, valores que se aproximam ao descrito na **Tabela 10**. Ainda em trabalho publicado por MIRALIAKBARI e SHAHIDI (2008), pode-se observar que os valores encontrados de α tocoferol em castanhas-do-pará disponíveis no mercado e armazenadas a -20°C variam de 1,28 a 1,44 mg/100g, γ tocoferol 13,82 a 16,82 mg/100g e δ tocoferol de 1,76 a 1,89 mg/100g, também inferiores em relação aos encontrados durante o período de análise.

Observa-se a **Figura 16** que não houve variação significativa entre o período analisado e entre os tratamentos na quantificação de tocoferóis totais. Pequenas variações podem ter ocorrido por diferentes fatores como: temperatura de armazenamento da amostra, condições do ambiente, tempo de uso da coluna do HPLC, etc.

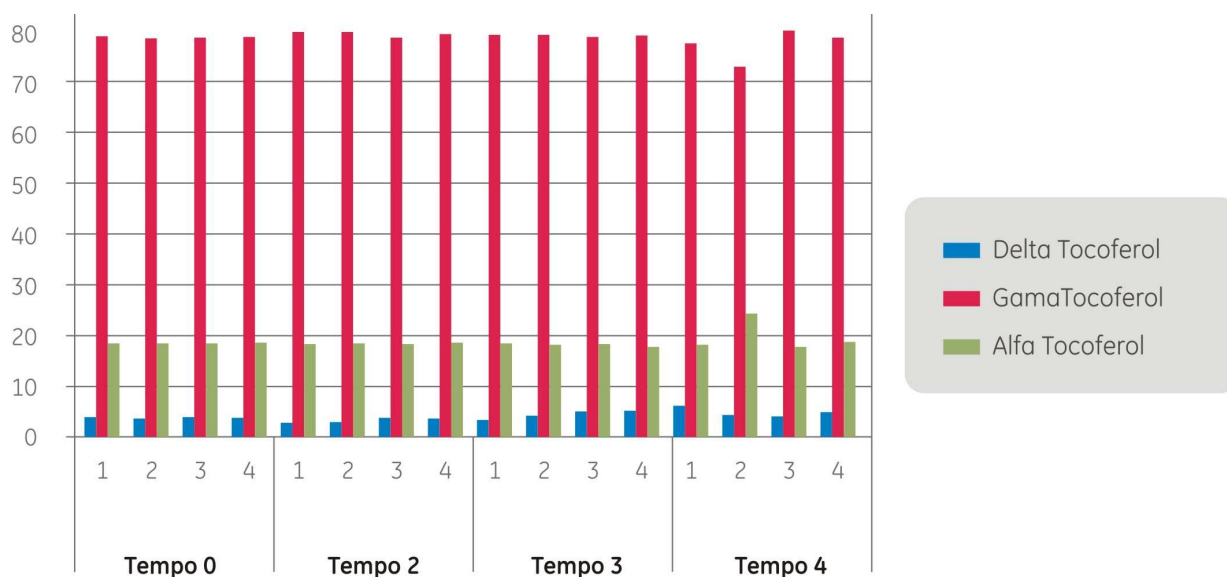


Figura 16: Tocoferóis (%) dos tratamentos aplicados ao granulado de castanha-do-pará durante os tempos de análise.

Em estudo conduzido por LAVEDRINE (1997), depois de 2 meses de armazenamento de amêndoas a 4°C , perdas significativas de todos os tocoferóis foi observada. Nove meses depois, um pequeno aumento foi notado, porém não significativo. O fato de os tocoferóis serem

extremamente instáveis na presença de ácidos graxos insaturados, oxigênio, álcali e íons metálicos além do alto teor de ácidos graxos polinsaturados (linoléico e linolênico) em amêndoas poderiam explicar a diminuição do teor de tocoferol observado nas amostras durante os 3 meses de armazenamento. YAO *et al.* (1992) não observaram tal diminuição em pecãs a 4°C provavelmente devido a sua baixa porcentagem de ácidos polinsaturados (25% linoléico) e alta de monoinsaturados como o ácido oléico que apresentou 60% (LAVEDRINE, 1997).

Com base na análise da **Figura 17**, os isômeros β e γ não foram separados durante a análise empregando HPLC, assim como observado por LAVEDRINE *et al.* (1997), no monitoramento e quantificação de tocoferóis em avelãs sem casca armazenadas a 4°C, e por KORNSTEINER *et al.* (2006). Portanto, considerou-se a área total obtida para o pico cromatográfico que representava os isômeros β e γ , e o resultado foi expresso apenas como γ -tocoferol, uma vez que o isômero β está geralmente presente nestas amostras em uma concentração relativamente baixa.

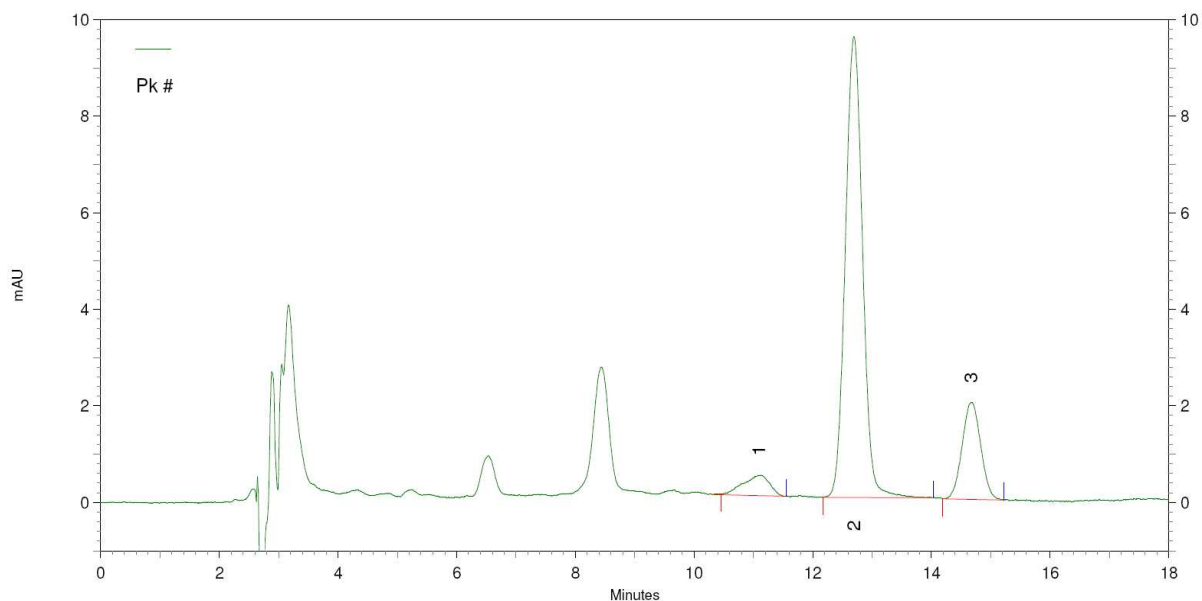


Figura 17: Cromatograma dos tocoferóis do granulado de castanha-do-pará.

1: α -tocoferol; 2: γ -tocoferol; 3: δ -tocoferol. Coluna C18 REGIS-Rexchoron S5-100-ODS 25cm x 4,6mm x 5 μ m; fase móvel: metanol:água 97:3 v/v, vazão 0,8 mL/min; detector DAD em 295nm.

6. CONCLUSÃO

A qualidade inicial do granulado de castanha foi muito boa, fato que pode ser comprovado pelas análises realizadas no início do tratamento. Deste modo, independentemente da embalagem utilizada, a conservação do granulado foi garantida durante os 6 meses de experimento, apesar de ser um produto descompartmentalizado (triturado).

As embalagens estavam totalmente cheias de granulado, o que talvez tenha evitado diferença no comportamento oxidativo grande alteração quando comparados os tratamentos a vácuo e embalagens em que não foram aplicadas o vácuo. Este pequeno *headspace* teve o mesmo efeito do vácuo.

Já as embalagens transparentes e aquelas totalmente metalizadas, não apresentaram diferença significativa e isso pode ser justificado pelo fato da etiqueta utilizada comercialmente na própria embalagem transparente teve a mesma função da embalagem metalizada, uma barreira contra a luz, dada a sua área de cobertura.

Conclui-se que no estudo aqui relatado, não houve diferença significativa entre os tratamentos, podendo-se dizer que a qualidade do granulado de castanha-do-pará foi garantida durante o período estudado. Entretanto, para um conhecimento maior do produto, seria necessário maior tempo de estudo. Além disso, é preciso maior incentivo de consumo da castanha-do-pará, já que é um produto nacional, muito rico nutricionalmente e tem um grande uso se seu beneficiamento for bem direcionado para exploração dos seus inúmeros subprodutos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, D.S.P. Antioxidantes: conceitos básicos e perspectivas terapêuticas. **ARS Curandi**, São Paulo, v.26, p.141-164, 1993.

ABIDI, S.L.; MOUNTS, T.L. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separations of tocopherols. **Journal of Chromatography A**, v. 782, p. 25-32, 1997.

ABIDI, S.L.; MOUNTS, T.L. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, Volume19, Issue4. February 1996 , p. 509 - 520.

ABIDI, S.L.; MOUNTS, T.L. Separations of tocopherols and methylated tocols on cyclodextrin-bonded silica. **Journal of Chromatography A**, v. 670, p. 67, 1994.

ABRE, **Associação Brasileira de Embalagem**. Disponível em: <http://www.abre.org.br>. Acesso em 05/08/2007.

ALMEIDA-DORIA, R.F. Ação antioxidante de extratos etanólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e oregano (*Origanum vulgare* L.) em óleo de soja submetido à termoxidação e fotoxidação. Piracicaba, 1999. 71 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

AMRO, B.; ABURJAI, T.; AL-KHALIL, S. Antioxidative and radical scavenging effects of olive cake extract. **Fitoterapia**. V. 73, Issue 6, p. 456-461, October 2002.

A.O.C.S. - AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY. **Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**. Champaign, Illinois. Ed. AOCS. 5ª Ed., 2003.

ASSUNÇÃO, F.P.; BENTES, M.H.S.; SERRYA, H. A comparison of stability of oils from Brazil nut, from rubber and passion fruit seeds. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.61, n.6, p.1031-1036, 1984.

- BALL, G.F.M. Fat-soluble Vitamin Assays in Food Analysis: A Comprehensive Review. **Elsevier Science Publishers Ltd.**, England. 1988, p. 35.
- BONVEHI, J.S.; COIL, F.V. Oil content, stability and fatty acid composition of the main varieties of Catalonian hazelnuts (*Corylus avellana* L.). **Food Chemistry**. v. 48, Issue 3, p. 237-241, 1993.
- BOURGEOIS, C.F. Determination of vitamin E: Tocopherols and Tocotrienols. London: **Elsevier Science Publishers Ltd.**, 1992. 162 p.
- BOURGEOIS, C.F. Propriétés antioxygènes des tocophérols et du palmitate d'ascorbyle dans les matières grasses. **Revue Française des Corps Gras**, Paris, v.28, n.9, p.353-356, 1981.
- CARDARELLI, H. R.; OLIVEIRA, A. J. Conservação do leite de castanha-do-pará. **Scientia Agricola**, Dez 2000, v. 57, n. 4, p. 617.
- CERT, A.; MOREDA, W.; PÉREZ-CAMINO, M.C. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, v.88, p.131-148, 2000.
- CHANG, C.C.; GUTENMANN, W.H.; REID, C.M.; LISK, D.I. Selenium content of Brazil Nuts from two geographic locations in Brazil. **Chemosphere**, v.30, n.4., p.801-802, 1995.
- COLLARES, D. G. **Castanha-do-Brasil**: uma alternativa de reflorestamento. Disponível em: <<http://www.cpafro.embrapa.br/>>. Acesso em: 10 out. 2006.
- COMBS, g.f. The vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health. New York: **Academic Press**, 1998. p. 189-222.
- COSTA, D. Valor do crescimento da proteína de castanha-do-pará. 2 ensaio. Estudos e pesquisas alimentares. 4ª ed. **Ed. SAPES**, Rio de Janeiro, 1959.
- COSTA, P.A. Caracterização de ácidos graxos, tocoferóis e fitosteróis em frutas e castanhas das regiões Norte e Nordeste do Brasil. 2007. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- EITENMILLER, R.; LEE, J. Vitamin E: Food Chemistry, Composition and Analysis. **Marcel Dekker Inc.** New York, 2004.
- EMBRANEWS. Flexíveis – Alimentos lideram consumo. **Embranews**, Junho, p. 26-28, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Disponível em: http://www.cnpf.embrapa.br/noticias/notiacre02_04-06.htm. Acesso em: 04/2006.

ETHERTON-KRIS, P.M.; ZHAO, G.; BINKOSKI, A.E.; COVAL, S.M.; ETHERTON, T.D. The effects of nuts on coronary heart disease risk. **Nutrition Reviews**, v.59, n. 4, p. 103–111, 2001.

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 físicoquímica, nutricional e aceitabilidade do consumidor. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 2, p. 163-174, 2004.

FERRARI, R.A.; SOUZA, W.L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, Vol. 32, No. 1, 106-111, 2009.

FLOROS, J. D. Controlled and modified atmospheres in food-packaging and storage. **Chemical Engineering Progress**, v. 86, p. 25-32, 1990.

FLOROS, J.D.; MATSOS, K.L. **Inovations in food packaging**. Elsevier, Capítulo 10, P. 159-171, 2005.

FREITAS, S.P.; FREITAS-SILVA, O.; MIRANDA, I.C.; COELHO, M.A.Z. Extração e fracionamento simultâneo do óleo de castanha-do-Brasil com etanol. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, 27(supl.): 14-17, 2007.

GAMLI, O.F.; HAYOGLU, I. The effect of the different packaging and storage conditions on the quality of pistachio nut paste. **Journal of Food Engineering**. v.78, Issue 2, p. 443-448, January 2007.

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

GUTIERREZ, E.M.R.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; RAUEN-MIGUEL, A.M. Estabilidade oxidativa de óleo bruto da castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*). **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 17, n. 1, p. 22-27, 1997.

HALLIWELL, B.; MURCIA, M.A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O.I. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, issue 1/2, 1995.

HARRISON, K.; WERE, L. M. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. **Food Chemistry**, v.102, n. 3, p. 932-937, 2007.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-494, 1973.

HEROBETTA, D. Aumente o tempo de prateleira de seus produtos com embalagens a vácuo. **Revista Frigorífico**, 2006. Edição 130. Disponível em: http://www.revistafrigorifico.com.br/revista/edicao_130_vacuho.htm. Acesso em 09/2007.

HOLLADAY, C.E.; PEARSON, J.L.; SLAY, W.O. A new packaging method for peanuts and pecans. **Journal of the Food Science**, Chicago, v.44, n.5, p.1530-1533, 1979.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas**, v. 1. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3ª ed. São Paulo, IAL, 1985. p.21.

JORNAL DE BRASÍLIA. **Estudo mostra que farinha de castanha-do-pará é eficaz no combate à desnutrição**. Disponível em: <http://www.clicabrasilia.com.br/portal/noticia.php?IdNoticia=24711>. Acesso em 08/2007.

KAHKONEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J.-P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, Columbus, v.47, n.10, p. 3954-3962, 1999.

KAMAL-ELDIN, A; APPELQUVST, L.A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 31, n. 7, p. 671-701, 1996.

KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. The stability and shelf-life of food. Capítulo 7. **Woodhead Publishing Limited**. Cambridge, London, 2000.

KLEPPING, J.; GUILLAND, J. C.; FUCHS, F.; MARCER, L.; HOUARD-MALVAL, M. Recueil de dones sur la composition des aliments. CEIV Eds, Produits Roche, **Neuilly sur Seine**, France. 1989, 128p.

KORNSTEINER, M.; WAGNER, K-H.; ELMADFA, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. **Food Chemistry**, v. 98, p. 381–387, 2006.

LAMBERSTEN, G.; MYKLESTAD, H.; BRAEKKAN,O.R. Tocopherols in nuts. **Journal of the Science Food and Agriculture** , v.13, p.617-620, 1962.

LAVEDRINE, F.; RAVEL, A.; POUPARD, A.; ALARY, J. Effect of geographic origin, variety and storage on tocopherol concentrations in walnuts by HPLC. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p. 135-440, 1997.

LEE, D. S. **Inovations in food packaging**. Elsevier, Capítulo 7, p.108-122, 2005.

LEE, S. C., JEONG, S. M., KIM, S. Y., NAM, K. C., AHN, D. U. Effect of far-infrared irradiation on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.5, p. 1495–1498, 2005.

LEENHER, A.P.; LAMBERT, W. **Modern Chromatographic Analysis of Vitamins**. Capítulo 3, 3^a ed. Vol. 84. Marcel Dekker, 2000.

LIMA, J.R.; GONÇALVES, L.A.G. Quantificação de tocoferóis em óleos de milho, soja, castanha-do-pará e castanha de caju por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, São Paulo, v.8, n.1, p.65-73, 1997.

MASKAN, M.; KARATAS. Fatty acid oxidation of pistachio nuts stored under various atmospheric conditions and different temperatures. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, p. 334-340, 1998.

MCLAREN, D.S.; LOVERIDGE, N; DUTHIE, G; BOLTON-SMITH, D. Fat soluble vitamins in: GARROW, J.S.; JAMES, W.P.T. (eds) **Human nutrition and dietetics**. 9^a Ed Singapore: 1993. Longman p. 208-238.

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.

MENEZES, T. J. B. A castanha do Pará na indústria de alimentos. **Boletim do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos**, n. 9, p. 23-30, 1967.

MIRALIKBARI H.; SHAHIDI F. Oxidative Stability of Tree Nut Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 2008, 56, 4751–4759.

OLIVEIRA, J.T.G.S.B. Melhor dosagem e dose econômica de TBHQ nos óleos de milho e canola. Piracicaba, 2003. 75p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

ORTIZ, C.M.L.; MOYA, M.S.P.; NAVARRO, V.B. A rapid chromatographic method for simultaneous determination of β -sitosterol and tocopherol homologues in vegetable oils. **Journal of food composition and analysis**, v. 19, p. 141-149, 2006.

PACHECO, S.G.A. Estabilidade oxidativa de óleo de peixe encapsulado e acondicionado em diferentes tipos de embalagem em condição ambiente. Piracicaba, 2005. 79p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PECHNIK, E.; BORGES, P.; SIQUEIRA, R. Estudos sobre a castanha-do-pará. **Instituto de Nutrição da Universidade do Brasil**. Trabalho e Pesquisa. III, 1950. 42 p.

PEREIRA, P.L. Extratos solúveis da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.). 1976. 43f. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1976.

PIEIDADE, K.R. Uso de ervas aromáticas na estabilidade oxidativa de files de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) processados. **Dissertação**, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

PIMENTEL, L.D.; JÚNIOR, A.W.; SANTOS, C.E.M.; BRUCKNERS, C.H. Estimativa de viabilidade econômica no cultivo da castanha-do-Brasil. **Informações Econômicas**, SP, v.37, n.6, jun. 2007.

PINTO-RAMOS, C.M.; BORA, P.S. Extraction and functional characteristics of Brazil Nut (*Bertholletia excels HBK*) globulin. **Food Science and Technology International**., 2003; 9(4):0265-5.

PRADO-FILHO, L.G. Umidade relativa de equilíbrio e oxidação de lipídios em farinhas de castanha-do-pará, de macadâmia e de soja. **Scientia Agrícola** (Piracicaba, Braz.) vol.51 no.2 Piracicaba May/Aug. 1994.

PYKA, A.; SLIWIOK, J. Chromatographic separation of tocopherols. **Journal of Chromatography A**, v. 935, p. 71–76, 2001.

RÉBLOVÁ, Z..The effect of temperature on the antioxidant activity of tocopherols. **European Journal Lipid Science Technology**, v. 108, p. 858–863, 2006.

REGITANO-D’ARCE, M.A; SIQUEIRA, F.M. Obtenção do leite e farinhas de castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*). In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO LATINO-AMERICANO SOBRE PROCESSAMENTO DE ÓLEOS E GORDURAS, 6, 1995, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, 1995. p.265-267.

- RIBEIRO, M. A. A.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B.; LIMA, U. A.; NOGUEIRA, M.C.S. Storage of canned shelled Brazil nuts: effects on the quality. **Acta Alimentaria**, v. 22, n.4, p. 295-303, 1993.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; BOLWELL, P.G.; BRAMLEY, P.M.; PRIDHAM, J.B. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, London, v.22, n.4, p.375-383, 1995.
- RICHEIMER, S.L.; KENT, M.C.; BERNART, M.W. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic method using a pentafluorophenyl bonded phase for analysis of tocopherols. **Journal of Chromatography A**, v. 677, p. 75, 1994.
- RIKHTER, A. A. Oxidation of almond and walnut oils. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 16, p. 446-504, 1981.
- ROBEY, W. Preventing the negative effects of nutrient oxidation on animal nutrition and performance. **Nutrition Updates**, St. Charles, v.4, n.2, p.1-10, 1994.
- RODRIGUES, C.E.C.; SILVA, F.A.; MARSAIOLI JR., A.; MEIRELLES, A.J.A. Deacidification of Brazil nut oils by solvent extraction: liquid-liquid equilibrium data at 298,2 K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, vol. 50, 517-523, 2005.
- ROGEZ, H. **Primeiro Seminário do Projeto “Estudo pluridisciplinar sobre a valorização de frutas amazônicas e de seus derivados”**, VII Castanha-do-pará, Belém, Brasil, 1995.
- ROVELLINI, P.; CORTESI, N.; FEDELI, E. Ossidazione dei lipid. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, v.74, n.5, p.181-189, 1997.
- RUPÉREZ, F.J.; MARTÍN, D.; HERRERA, E.; BASRBAS, C. Chromatographic analysis of α -tocopherol and related compounds in various matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 935, p. 45-69, 2001.
- SARRUF, M. ANBA. Brasil exporta mais de 90% de sua produção de castanha-do-pará, fruto típico da Amazônia. **Agência de Notícias Brasil – Árabe**, 2004. Disponível em: <http://www.anba.com.br/noticia.php?id=4075>. Acesso em: 03/08.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 8S, p. 2073S–2085S, 2000.

SHAHIDI, F. **Natural Antioxidants: An Overview**. Capítulo 1. Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications. Ed. Fereidoon Shahidi. Champaign: AOCS. 1997

SHAHIDI, F. Stability of fats and oils. In: LATIN AMERICAN CONGRESS AND EXHIBIT ON FATS AND OILS PROCESSINGS, 6. **Proceedings**. Campinas: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, 1995, P.47-54.

SHERWIN, E.R. Antioxidants for vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 53, n. 6, p. 430-436, 1976.

SHUKLA, V.K.S.; WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; SHAHIDI, F. **Natural Antioxidant from Oilseeds**. Capítulo 7. Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications. Ed. Fereidoon Shahidi. Champaign: AOCS. 1997.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n.1, 1999.

SILVA, F.A. **Aplicação de microondas no processo de beneficiamento da castanha-do-Brasil**. 2002. (Dissertação de Mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SILVA, M.G. **Macadâmia nacional: tocoferóis e caracterização físico-química**. 2003. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SIMOPOULOS, A.P. The Mediterranean diets: what is so special about the diet of Greece? The scientific evidence. **Journal of Nutrition**, v.131, n. 11, p. 3065S–3073S, 2001.

SIQUEIRA, F.M. Estabilidade oxidativa de óleos de soja, milho e canola. Piracicaba, 1998. 91p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SOUZA, M.L.; HOLANDA, L.F.F.; MAIA, G.A.; JUNIOR, J.C.G.; FIGUEIREDO, R.W. Estudo do processamento e estabilidade de amêndoa de Castanha-do-Brasil. **Revista Ciência Agronômica**, v. 17, n. 1, p. 35-42, 1986.

SOUZA, M.L.; RODRIGUES, R.S.; FURQUIM, M.F.G.; EL-DASH, A.A. Processamento de “cookies” de castanha-do-Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 2, jul./dez. 2001.

- SOUZA, M.L. Estudos de processos tecnológicos para a obtenção de produtos derivados de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.). 1984. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1984.
- 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, apolipoproteins, and high-density lipoprotein function in human subjects. **Nutrition Research** 28 (2008) 151–155
- SUDAM. **Estudos e pesquisas sobre a castanha-do-pará**. Belém, 1976. 100 p.
- SUDAM. I **Simpósio Nacional da castanha-do-Brasil**, Belém, Ministério do Interior, 1982.
- SUJA, K.P.; JAYALEKSHMY, A.; ARUMUGHAN, C. Antioxidant activity of sesame cake extract. **Food Chemistry**, v. 91, p. 213-219, 2005.
- TATEO, F. Acid composition of the fatty material extracted from seeds of *Bertholletia excelsa* H.B.K. **Industria Alimentari**, v.10, n. 70, p.68-70, 1971.
- THOMSON, C.D.; CHISHOLM, A.; McLACHLAN, S.K.; CAMPBELL, J.M. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, March, 2009-03-17.
- TRABER, M.G. Vitamin E. In: Shils, ME et al. **Modern nutrition in health and disease**. Ed 9, Baltimore: Willians & Wilkins, 1999. p. 347-362.
- TRADBOR. Disponível em: <http://www.tradbtor.com.br/tradpouch.htm>. Acesso em 30/06/2007.
- VALENZUELA B, A.; NIETO K., S. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. **Grasas y Aceites**, v. 47, n. 3, p. 186-196, 1996.
- VIANNA, P. R. **Estudo da castanha-do-Brasil**. Brasília: Ministério da Agricultura, Comissão de Financiamento da Produção, 1972.
- VIEIRA , T.M.F.S. Estabilidade oxidativa de oleos vegetais refinados: efeito do aquecimento por microondas. Piracicaba, 1998. 70p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- YANISHLIEVA, N. V. Inhibiting oxidation. In: Antioxidants in Food – Practical Applications. Eds. J. Pokorny, N. V. Yanishlieva, M. H. Gordon, **Woodhead Publishing**, Cambridge (UK) 2001, pp. 22–70.

YAO, F.; DULL, G.; EITENMILLER, R. Tocopherol quantification by HPLC in pecans and relationship to kernel quality during storage. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 5, p. 1194-1197, 1992.

YURTTAS, H.C.; SCHAFER, H.W.; WARTHESEN, J.J. Antioxidant activity of nontocopherol hazelnut (*Corylus spp.*) phenolics. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 276-280, 2000.

YU, L.L.; ZHOU, K.K.; PARRY, J. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry and hemp seed oils. **Food Chemistry**, v. 91, p. 723-729, 2005.