

Fernanda Demoliner

**PERFIL QUÍMICO DA CASTANHA DE SAPUCAIA
(*Lecythis pisonis* Cambess) E OBTENÇÃO DE EXTRATO
HIDROSSOLÚVEL VEGETAL POR
CRIOCONCENTRAÇÃO**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Ciência dos Alimentos

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Jane Mara Block

Florianópolis
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Demoliner, Fernanda
PERFIL QUÍMICO DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess) E OBTENÇÃO DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL VEGETAL POR CRIOCONCENTRAÇÃO / Fernanda Demoliner ; orientadora, Jane Mara Block, 2019.
195 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

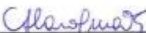
1. Ciência dos Alimentos. 2. Torta de castanha de sapucaia. 3. Casca de castanha de sapucaia. 4. Extrato hidrossolúvel. 5. Crioconcentração. I. Block, Jane Mara . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

Fernanda Demoliner


**PERFIL QUÍMICO DA CASTANHA DE SAPUCAIA
(*Lecythis pisonis* Cambess) E OBTENÇÃO DE EXTRATO
HIDROSSOLÚVEL VEGETAL POR
CRIOCONCENTRAÇÃO**

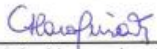
Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutor em Ciência dos Alimentos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos.

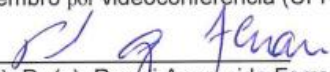
Florianópolis, 25 de fevereiro de 2019.

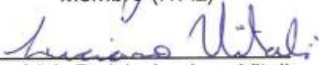

Prof. (a). Dr. (a). Ana Carolina de Oliveira Costa
Coordenador

Banca Examinadora:


Prof.(a). Dr.(a). Jane Mara Block,
Orientador (UFSC)


Prof.(a). Dr.(a). Alexandre Guedes Tomes
Membro por videoconferência (UFRJ)


Prof.(a). Dr.(a). Roseli Aparecida Ferrari,
Membro (ITAL)


Prof.(a). Dr.(a). Luciano Vitali,
Membro (UFSC)


Prof.(a). Dr.(a). Elaine Schwinden Prudêncio,
Membro (UFSC)

Profª Dra Ana Carolina de Oliveira
Costa
do Programa de Pós-Graduação
em Ciências dos Alimentos
Pontaria nº 806/GR/2016

Aos meus pais Armando e Inês, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e dos Alimentos pela oportunidade de realização do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

À Prof^a. Jane Mara Block, pela orientação, confiança, apoio e por todos os ensinamentos durante a realização do trabalho. É uma honra ter sido sua aluna.

Ao Lúcio Vasconcelos e a Embrapa Meio-Norte pela doação das amostras da castanha de sapucaia.

Aos professores: Elane Prudêncio, Roseli Ferrari, Luciano Vitalli, Vera Lúcia Azzolin Frescura Bascuñan, Iván Jachmaniánd e Alicia de Francisco de Casas, os quais contribuíram para a realização de análises. Agradeço por terem sido tão atenciosos, generosos e prestativos.

Ao Juliano Carvalho Ramos pela grande ajuda com as análises de minerais.

À Gabriela Rodrigues de Liz pela ajuda com as análises de crioconcentração.

Aos colegas do laboratório de Óleos e Gorduras, e em especial à Priscila Policarpi e à Letícia Turcatto por todo apoio e ajuda. Sou imensamente grata!

Ao Dr. Alexandre Guedes Torres, por nos conceder a honra de sua participação como relator da tese.

A todos os membros da Banca pela disponibilidade para participação e avaliação desse trabalho.

Aos demais colegas do PPGCAL que de alguma forma contribuíram para a concretização deste trabalho.

Aos meus queridos pais, e irmãs, pelo amor incondicional, incentivo, apoio e compreensão. Amo vocês!

A Deus, por todas as graças alcançadas, pelo porto seguro e por me dar força para alcançar meus objetivos.

Muito Obrigada!

RESUMO

A castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) é uma oleaginosa nativa da Amazônia, que ocorre também nas regiões Nordeste e Sudeste, abrangendo no Brasil os biomas Amazônia e Mata Atlântica. Apesar do seu potencial nutricional e econômico, a castanha de sapucaia permanece inexplorada. Neste trabalho foi estudado o perfil químico da castanha de sapucaia e de seus subprodutos (torta e casca). Além disso, foi avaliado o efeito da crioconcentração nas propriedades nutricionais do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia. As castanhas e tortas apresentaram alto teor de lipídios (47,9 a 60,8 g 100 g⁻¹), proteínas (15,8 a 19,5 g 100g⁻¹), fibra alimentar (16,5 a 22,6 g 100 g⁻¹) e selênio (26,4 a 46,94 µg g⁻¹). O óleo apresentou elevada composição de ácidos graxos insaturados (39,7 a 45,4% de ácido oléico e 32,2 a 46,6% de ácido linoléico). Os principais triacilgliceróis no óleo de sapucaia foram LLO, PLO, LOO, POO, OOO, PLL e LLL. O Índice de Estabilidade Oxidativa (8,57-12,95 horas) indicou a presença de compostos antioxidantes no óleo. Os principais lipídeos bioativos identificados no óleo foram γ -tocoferol (19,2 a 28,5 mg 100 g⁻¹) e β -sitosterol (92,8 a 194 mg 100 g⁻¹). Na castanha de sapucaia foram identificados por LC-ESI-MS/MS 14 compostos fenólicos, principalmente ácidos fenólicos e flavonóides. Catequina, epicatequina, miricetina, ácido elágico e ácido ferúlico apresentaram correlação significativa com a atividade antioxidante. Na casca da sapucaia foram identificados 22 compostos fenólicos. Os ácidos gálico, protocatecuico, vanílico, ferúlico e elágico, epigalocatequina, catequina, epicatequina, taxifolina, miricetrina e vanilina foram os compostos fenólicos quantificados em todas as amostras. Todos os compostos identificados foram reportados pela primeira vez nesta matéria-prima. O composto fenólico mais abundante encontrado na casca de sapucaia foi a catequina. O extrato de casca de sapucaia apresentou o maior teor de compostos fenólicos totais, alto teor de taninos condensados e alta atividade antioxidante. O efeito de cinco estágios de crioconcentração em bloco sobre os compostos nutricionais e fitoquímicos do extrato hidrossolúvel obtido a partir da torta de castanha de sapucaia foi estudado. Em relação à composição dos concentrados observou-se que os teores de sólidos totais, proteínas, cinzas, carboidratos, sólidos solúveis (°Brix) e minerais aumentaram com os estágios de crioconcentração. O concentrado apresentou valores crescentes de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ABTS nos estágios C3, C4, C5 de crioconcentração. No entanto,

a atividade antioxidante determinada pelo ensaio FRAP aumentou significativamente ($p < 0,05$) para todos os estágios de crioconcentração. Os compostos fenólicos como os ácidos gálico, vanílico, ferúlico, sinápico e salicílico, catequina, taxifolina e sinapaldeído, aumentaram substancialmente em todos os estágios de crioconcentração. Os resultados obtidos indicaram que a castanha de sapucaia e seus subprodutos são ricos em compostos nutricionais, bioativos e antioxidantes. Além disso, as matérias-primas estudadas podem ser consideradas promissoras para a indústria de alimentos, cosmética e farmacêutica. A torta de castanha de sapucaia pode ser utilizada para a obtenção de extrato hidrossolúvel e a tecnologia de crioconcentração pode ser utilizada para a concentração de nutrientes e compostos bioativos. As frações obtidas através da concentração por sua vez podem ser utilizadas como ingrediente para o enriquecimento nutricional de diferentes alimentos.

Palavras-chave: Torta de castanha de sapucaia. Casca de castanha de sapucaia. Tocoferóis. Fitoesteróis. Compostos fenólicos. Extrato hidrossolúvel. Crioconcentração.

ABSTRACT

The sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) is an oleaginous native of the Amazon, occurring also in the Northeast and Southeast regions, covering in Brazil the Amazon and Atlantic Forest biomes. Despite its nutritional and economic potential, Brazil nut remains unexplored. In this work the chemical profile of the sapucaia nut and its co-products (cake and shell) was studied. In addition, the effect of cryoconcentration on the nutritional properties of the hydrosoluble sapucaia nut extract was evaluated. The nuts and cake exhibited a high content of lipid (47.9 to 60.8 g 100 g⁻¹), protein (15.8 to 19.5 g 100 g⁻¹), dietary fiber (16.5 to 22.6 g 100 g⁻¹) and provided an excellent source of selenium (26.4 to 46.94 µg g⁻¹). The oil contained a high amount of unsaturated fatty acids (39.7 to 45.4% of oleic and 32.2 to 46.6% of linoleic acids). The major triacylglycerols in the sapucaia oil were LLO, PLO, LOO, POO, OOO, PLL and LLL. The Oxidative Stability Index (8.57-12.95 hours) indicating the presence of antioxidant compounds in the oil. The main bioactive lipids identified in the oil were γ -tocopherol (19.2 to 28.5 mg 100 g⁻¹) and β -sitosterol (92.8 to 194 mg 100 g⁻¹). 14 phenolic compounds were identified by LC-ESI-MS/MS in the sapucaia nut extract, primarily phenolic acids and flavonoids. Catechin, epicatechin, myricetin, ellagic acid and ferulic acid presented significant correlation to the antioxidant activity. The sapucaia shell contained 22 phenolic compounds. The gallic, protocatechuic, vanillic, ferulic, and ellagic acids, epigallocatechin, catechin, epicatechin, taxifolin, myricetin, and vanillin were quantified in all samples. All identified compounds were reported for the first time in this raw material. Catechin was the most abundant phenolic compound found in sapucaia shell. The sapucaia shell extract showed a high content of total phenolic compounds, a high condensed tannins content, and high antioxidant activity. The effect of five stages of freezing concentration in blocks on the nutritional and phytochemical compounds of the hydrosoluble extract of sapucaia nut cake was studied. Overall, in relation to concentrates composition was observed that total solids, proteins, ash, carbohydrate, soluble solids (°Brix) and minerals contents increased with the freeze concentration stages. The concentrate showed increasing values of phenolic compounds and antioxidant activity by the ABTS method in the cryoconcentration stages C3, C4 and C5. However, the antioxidant activity determined by the FRAP assay increased significantly ($p < 0.05$) for all stages of cryoconcentration. The isolated phenolic compounds detected by LC-ESI-MS/MS, such as gallic, vanillic, ferulic, sinapic and

salicylic acids, catechin, taxifolin and sinapaldehyde, improved substantially in all freeze concentration stages. The results indicated that the sapucaia nut and by-products are rich in nutritional compounds, bioactive and antioxidants and their presence in the diet can contribute to the maintenance of human health. In addition, the raw materials studied may be considered promising for the food, cosmetic and pharmaceutical industries. The sapucaia cake can be used to obtain a hydrosoluble extract and the cryoconcentration technology can be used for the concentration of nutrients and bioactive compounds. The fractions obtained through the concentration in turn can be used as an ingredient for the nutritional enrichment of different foods.

Keywords: Sapucaia cake. Sapucaia shell. Tocopherols. Phytosterols. Phenolic compounds. Hydrosoluble extract. Cryoconcentration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Árvore da Sapucaia em floração (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess).....	33
Figura 1.2 - Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess): A) Tronco. B) Ramo com flores e botões florais. C) Flor com numerosos estames amarelos.....	33
Figura 1.3 - Castanha de Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess). A) Fruto maduro, com o opérculo aberto e, polpa e castanha no seu interior. B) Fruto vazio e castanhas com casca. C) Castanhas com casca. D) Castanhas sem casca.....	34
Figura 1.4 - Estrutura química dos ácidos fenólicos mais amplamente distribuídos na natureza.....	39
Figura 1.5 - Estrutura genérica dos flavonóides.....	40
Figura 1.6 - Estrutura química dos flavonóides.....	41
Figura 1.7 - Estrutura química de um tanino condensado (proantocianidina).....	42
Figura 1.8 - Ensaio de vanilina para taninos condensados.....	44
Figura 1.9 - Estabilização do radical ABTS ^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio (K ₂ SO ₅).....	47
Figura 1.10 - Estrutura do radical DPPH [•] e reação de estabilização com um antioxidante.....	48
Figura 1.11 - Redução do Fe (III) a Fe (II) pela adição de um antioxidante.....	48
Figura 1.12 - Métodos de crioconcentração. (a) Cristalização por suspensão. (b) Crioconcentração progressiva.....	51
Figura 2.1 - Mapa de estados e municípios onde as amostras foram coletadas. PI: Piauí; MG: Minas Gerais.....	71
Figura 2.2 - Amostras de castanha de Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess). A) Castanhas provenientes do Piauí (1, 2 e 3) e de Minas Gerais (4). B) Diferença de tamanho entre castanhas de diferentes regiões.....	72
Figura 2.3 - Diagrama das análises realizadas na castanha, torta, óleo de casca de sapucaia.....	73
Figura 4.1 - Fluxograma do processo de crioconcentração em bloco onde o EHS representa o volume inicial do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia, C1, C2, C3, C4 e C5 representa as frações concentradas e G1, G2, G3, G4 e G5 representam as frações de gelo.....	153
Figura 4.2 - Aparato para a realização de crioconcentração.....	153

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Composição nutricional da castanha de sapucaia obtida em diferentes estudos.....	36
Tabela 1.2 - Composição mineral da castanha de sapucaia.....	37
Tabela 1.3 - Perfil de ácidos graxos do óleo da castanha de sapucaia.....	38
Tabela 2.1 - Limites de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e coeficientes de determinação (R^2) utilizados para cada um dos elementos estudados.....	75
Tabela 2.2 - Composição nutricional ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) da castanha, torta e casca de sapucaia	80
Tabela 2.3 - Composição de minerais ($\mu\text{g } \text{g}^{-1}$) na castanha e torta de sapucaia	83
Tabela 2.4 - Ingestão Dietética Recomendada (Recommended Dietary Allowance/RDA) de minerais para adultos (homens e mulheres, 19-50 anos) da ingestão de 2 g de castanha e torta de sapucaia	84
Tabela 2.5 - Características físico-químicas do óleo de castanha de sapucaia	88
Tabela 2.6 - Composição de ácidos graxos, tocoferóis e fitoesteróis no óleo de castanha de sapucaia	89
Tabela 2.7 - Composição de triacilglicerídeos (TAGs) no óleo de sapucaia	91
Tabela 2.8 - Variação da composição nutricional da castanha de sapucaia em comparação às castanhas: Brasil, caju, baru e chicha.....	93
Tabela 3.1 - Íon precursor, íon quantitativo, tempo de retenção, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), equação da curva e coeficiente de determinação (R^2) dos compostos fenólicos identificados nas amostras de castanha e casca de sapucaia	120
Tabela 3.2 - Conteúdo de compostos fenólicos identificados ($\text{mg } \text{g}^{-1}$ de extrato seco) em castanha e casca de sapucaia	122
Tabela 3.3 - Perfil fenólico da castanha do Brasil, caju, baru, noz pecan e castanha de chichá e seus subprodutos (pele e casca dura).....	124
Tabela 3.4 - Compostos fenólicos totais (FT), capacidade antioxidante (FRAP, ABTS e DPPH) e taninos condensados (TC) em extratos de castanha e casca de sapucaia (peso seco).....	130
Tabela 3.5 - Correlação entre capacidade antioxidante e compostos fenólicos na castanha e casca de sapucaia.....	132
Tabela 4.1 - Limites de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e coeficientes de determinação (R^2) utilizados para cada um dos elementos estudados.....	155
Tabela 4.2 - Propriedade físico-química do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial, concentrados (C) e gelo (G) para cada estágio de criocentralização.....	163
Tabela 4.3 - Propriedade físico-química (Acidez titulável e pH) do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial,	

concentrados (C) e gelo (G) para cada estágio de criocentralização.....	164
Tabela 4.4 - Composição mineral do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial, fração concentrada (C) e gelo (G) para cada estágio de criocentralização.....	166
Tabela 4.5 - Densidade e cor (L^* , a^* , b^* , C^* , h^*) do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial, fração concentrada (C) e gelo (G) para cada estágio de criocentralização.....	168
Tabela 4.6 - Íon precursor, íon quantitativo, tempo de retenção, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), equações da curva e coeficientes de determinação (R^2) da análise de compostos fenólicos do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial, fração concentrada (C) e gelo (G) para cada estágio de criocentralização.....	170
Tabela 4.7 - Perfil fenólico (mg g^{-1}) do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial e fração concentrada (C) para cada estágio de criocentralização.....	172
Tabela 4.8 - Teor de fenólicos totais (FT) e atividade antioxidante (ABTS e FRAP) do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial, concentrado (C) e gelo (G) para cada estágio de criocentralização.....	173
Tabela 4.9 - Correlação entre FT, capacidade antioxidante (FRAP e ABTS) e compostos fenólicos individuais do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial e fração concentrada (C) para cada estágio de criocentralização.....	174

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A** - Amostras do Piauí
ABTS - 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
AG - Ácido graxo
Al - Alumínio
AOAC - Association of Official Analytical Chemists
AOCS - American Oil Chemists' Society
B - Amostras de Minas Gerais
C - Concentrado
Ca - Cálcio
Cd - Cádmiio
Cr - Cromo
Cu - Cobre
DPPH - 2,2-difenil-1-picrylhydrazil
ECN - Número de carbonos equivalente
EHS - Extrato hidrossolúvel da torta da castanha sapucaia
EP - Eficiência do processo
FAO/WHO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FC - Fator de concentração
FRAP - Poder Antioxidante de Redução do Ferro (do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Power*)
FT - Fenólicos totais
G - Gelo
HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High Performance Liquide Chromatography*)
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS - Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
LC-ESI-MS/MS - Cromatografia líquida acopladas a espectrômetro de massas
LOD - Limite de detecção
LOQ - Limite de quantificação
Mg - Magnésio
Mn - Manganês
Mo - Molibdênio
MS - Massas
Na - Sódio
Ni - Níquel
Pb - Chumbo

Se - Selênio

Sn - Estanho

TAG - Triacilgliceróis

TC - Taninos condensados

TEAC - Capacidade antioxidante equivalente em Trolox

TPTZ - Complexo 2,4,6- tripiridil-s-triazina

Zn - Zinco

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	23
OBJETIVOS	27
Objetivo geral.....	27
Objetivos específicos.....	27
CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
1.1. Castanhas comestíveis.....	31
1.2. Castanha de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess)	31
1.2.1. Composição nutricional da castanha de sapucaia.....	35
1.3. Compostos fenólicos.....	38
1.3.1. Análise de compostos fenólicos.....	42
1.3.2. Avaliação da atividade antioxidante.....	45
1.4. Extrato hidrossolúvel vegetal.....	48
1.5. Crioconcentração.....	50
REFERÊNCIAS.....	53
CAPÍTULO 2 - COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E PERFIL LIPÍDICO DA CASTANHA DE SAPUCAIA (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess) E SEUS SUBPRODUTOS.	65
RESUMO.....	67
1. INTRODUÇÃO.....	69
2. MATERIAL DE MÉTODOS.....	71
2.1. Amostras.....	71
2.2. Reagentes químicos	72
2.3. Obtenção do óleo e torta da castanha de sapucaia.....	72
2.4. Composição nutricional.....	73
2.5. Composição mineral.....	74
2.6. Caracterização físico-química do óleo de castanha de sapucaia.....	75
2.7. Composição de ácidos graxos.....	75
2.8. Composição de tocoferóis.....	76
2.9. Composição de fitosteróis.....	76
2.10. Composição de triacilgliceróis.....	77
2.11. Análise estatística.....	77
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
3.1. Composição nutricional da castanha, torta e casca de sapucaia.....	79
3.2. Composição mineral da castanha e torta de sapucaia.....	82
3.3. Caracterização físico-química do óleo de sapucaia.....	86
3.4. Composição de ácidos graxos, tocoferóis e fitosteróis em óleo de sapucaia.....	89
3.5. Perfil de triacilglicerídeos (TAGs) no óleo de sapucaia.....	91
3.6. Composição nutricional e perfil lipídico da castanha de sapucaia em comparação com castanha do Brasil, caju, baru e chichá.....	92
4. CONCLUSÃO.....	95
REFERÊNCIAS.....	97
CAPÍTULO 3 - PERFIL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E	

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASTANHA DE SAPUCAIA (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess) E SEUS SUBPRODUTOS.....	105
RESUMO.....	107
1. INTRODUÇÃO.....	109
2. MATERIAL DE MÉTODOS.....	111
2.1. Amostras.....	111
2.2. Reagentes químicos	111
2.3. Obtenção dos extratos.....	111
2.3.1. Obtenção da farinha de sapucaia e do pó da casca de sapucaia.....	111
2.3.2. Extração sequencial (Teste preliminar)	112
2.3.3. Extração assistida por ultrassom.....	112
2.4. Identificação e quantificação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS.....	113
2.4.1. Preparo das amostras.....	113
2.4.2. Análise dos compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS.....	113
2.5. Determinação de compostos fenólicos totais (FT).....	114
2.6. Determinação da atividade antioxidante.....	114
2.6.1. Método FRAP.....	114
2.6.2. Método ABTS.....	115
2.6.3. Método DPPH.....	115
2.7. Determinação de taninos condensados (TC).....	116
2.8. Análise estatística.....	116
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	119
3.1. Perfil fenólico por LC-ESI-MS/MS.....	119
3.2. Compostos fenólicos totais (FT), taninos condensados (TC) e capacidade antioxidante.....	129
4. CONCLUSÃO.....	135
REFERÊNCIAS.....	137
CAPÍTULO 4 – PRODUÇÃO DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DA TORTA DE CASTANHA DE SAPUCAIA PELO PROCESSO DE CRIOCONCENTRAÇÃO EM BLOCO.....	145
RESUMO	147
1. INTRODUÇÃO.....	149
2. MATERIAL DE MÉTODOS.....	151
2.1. Amostras.....	151
2.2. Reagentes químicos	151
2.3. Obtenção da torta de prensagem da castanha sapucaia e do extrato hidrossolúvel (EHS)	151
2.4. Crioconcentração.....	152
2.5. Análises físico-químicas.....	154
2.5.1 Conteúdo mineral.....	154
2.6. Densidade.....	155
2.7. Análise de cor	156
2.8. Identificação e quantificação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/M.....	156

2.8.1. Preparo de amostras.....	156
2.8.2. Condições cromatográficas.....	157
2.9. Determinação do teor de fenólicos totais (FT).....	158
2.10. Atividade antioxidante (ABTS e FRAP).....	158
2.11. Análise estatística.....	159
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	161
3.1. Propriedades físico-químicas.....	161
3.1.1.Composição mineral.....	164
3.2. Densidade e cor.....	167
3.3. Perfil de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS.....	169
3.4. Avaliação do conteúdo fenólico total (FT) e atividade antioxidante...	173
4. CONCLUSÃO.....	177
REFERÊNCIAS.....	179
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	185
ANEXOS.....	187
ANEXO A - Padrões e parâmetros da espectrometria de massas para os compostos fenólicos testados em castanha e casca de sapucaia.....	187
ANEXO B - Cromatograma representativo da amostra da casca de sapucaia.....	189
ANEXO C - Cromatograma representativo da amostra da castanha de sapucaia.....	189
ANEXO D - Cromatograma representativo da amostra do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS).....	190
ANEXO E - Cromatograma representativo da amostra de extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia no quinto estágio de crioconcentração (C5).....	190
ANEXO F - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen).....	191

INTRODUÇÃO

As castanhas comestíveis mais populares em todo o mundo são amêndoa, castanha do Brasil, castanha de caju, avelã, pistache, noz pecan, macadâmia e noz (CHANG *et al.*, 2016). Estas castanhas têm recebido atenção especial de pesquisadores uma vez que são fontes naturais de proteínas, ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais, podendo contribuir significativamente para a composição da dieta humana. Diferentes estudos indicam uma relação entre o consumo de castanhas e a prevenção da diabetes tipo II, câncer, hipertensão arterial e doenças neurodegenerativas (ROS, 2009; KENDALL *et al.*, 2011; AFSHIN *et al.*, 2014; LUO *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2014). Os efeitos observados são atribuídos à ação sinérgica de diferentes compostos bioativos como compostos fenólicos, tocoferóis, fitoesteróis e ácidos graxos essenciais presentes nas castanhas (LIU, 2003). Levando-se em consideração todas estas características, as castanhas tornam-se muito atrativas tanto para o consumo *in natura*, quanto para o enriquecimento de outros alimentos.

As castanhas com o maior volume de produção e comercialização no Brasil são castanhas do Brasil (*Bertholletia excelsa* Kunth) e de caju (*Anacardium occidentale* L.). A produção brasileira em 2017 para castanha do Brasil alcançou 26.191 toneladas e para castanha de caju 1.715 toneladas (IBGE, 2017). Outras espécies nativas são conhecidas regionalmente, mas são pouco estudadas e não são disponíveis comercialmente, apesar de apresentarem potencialidade para o mercado de amêndoas. Dentre elas, encontra-se a espécie *Lecythis pisonis* Cambess, também conhecida como castanha de sapucaia. É uma espécie originária da Amazônia, que ocorre nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste, abrangendo os biomas Amazônia e Mata Atlântica (LORENZI, 2002). Alguns estudos revelaram que a castanha de sapucaia é uma excelente fonte de nutrientes, com elevados teores de proteínas, ácidos graxos insaturados e minerais (VALLILO *et al.*, 1998; VALLILO *et al.*, 1999; DENADAI *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2012).

O conhecimento do potencial de um alimento como a castanha de sapucaia e seus co-produtos, pode ser determinante para a produção sustentável do mesmo, preservando o ecossistema e possibilitando o desenvolvimento sócio econômico da região. Além de poder ser consumida na forma *in natura*, as castanhas podem ser processadas e seus subprodutos como o óleo e torta, podem ser uma alternativa a ser explorada comercialmente.

Após a extração do óleo é possível obter produtos como a farinha e o extrato hidrossolúvel da castanha. O desenvolvimento de produtos a partir destas matérias-primas é de grande interesse uma vez que o consumo e a demanda por alimentos saudáveis têm crescido nos últimos anos. Este aumento ocorreu em função da relação bem estabelecida pela ciência entre dieta e saúde e das recomendações dos órgãos internacionais de saúde e nutrição para um aumento no consumo de produtos de origem vegetal e uma diminuição de alimentos processados de alto valor energético (MICHA *et al.*, 2017). Diversas pesquisas foram realizadas para o desenvolvimento de produtos novos e atrativos, como o extrato hidrossolúvel de diferentes vegetais. O consumo deste tipo de alimento tem aumentado entre consumidores que possuem algum tipo de alergia ou intolerância ao leite e/ou restrição alimentar (vegetarianos e veganos), além daqueles que buscam uma alimentação saudável e equilibrada nutricionalmente (FERBERG *et al.*, 2002; SOARES JUNIOR *et al.*, 2010; MORAIS *et al.*, 2010; BICUDO *et al.*, 2012; SHAKERARDEKANI *et al.*, 2013). A elaboração de um extrato hidrossolúvel a partir de um subproduto da castanha permite a valorização de um subproduto, a torta, que resulta da obtenção do óleo.

Para a indústria de alimentos, é importante o uso de tecnologias que respeitem o meio ambiente, sejam eficazes e de baixo custo, tornando possível preservar o valor nutritivo dos produtos transformados e manter as atividades biológicas dos componentes nutricionais e fitoquímicos. Neste contexto, a aplicação da tecnologia de crioc Concentração, que é um método de separação de fases sólido/líquida em baixas temperaturas e uma alternativa às técnicas de concentração convencionais utilizadas no processamento de alimentos (BELÉN *et al.*, 2012). A crioc Concentração pode ser aplicada na produção do extrato hidrossolúvel da castanha, servindo como opção promissora para concentração de compostos nutricionais, como proteína, ácidos graxos essenciais e compostos fitoquímicos.

Até o momento, dados sobre o perfil químico e atividade antioxidante da castanha de sapucaia e os subprodutos são escassos na literatura, e estudos sugerindo tecnologia de aplicação em sistemas alimentares com estas matérias-primas são inexistentes. Dessa forma, as informações obtidas a partir do desenvolvimento do presente trabalho podem estimular o consumo deste tipo de castanha e o desenvolvimento da atividade econômica na região, gerando importante fonte de renda familiar para as comunidades extrativistas e ao mesmo tempo o interesse comercial no mercado nacional.

O presente documento foi organizado na forma de artigos e está dividido da seguinte forma:

a) **Capítulo 1 - Revisão Bibliográfica:** neste capítulo são abordados os principais temas envolvidos no trabalho: castanhas comestíveis, castanha de sapucaia, análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante, extrato hidrossolúvel vegetal e crioconcentração.

b) **Capítulo 2 - Composição nutricional e perfil lipídico da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) e seus subprodutos:** neste capítulo são descritas a composição nutricional e fitoquímica da castanha, torta, óleo e casca de sapucaia.

c) **Capítulo 3 - Perfil dos compostos fenólicos e atividade antioxidante da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) e seus subprodutos:** neste capítulo são apresentados os dados de identificação e quantificação de compostos fenólicos dos extratos obtidos a partir da castanha e casca de sapucaia por LC-ESI-MS/MS. Também foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos através dos métodos ABTS, FRAP e DPPH.

d) **Capítulo 4 - Produção do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia e aplicação do processo de crioconcentração em bloco:** neste capítulo são descritos a obtenção do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia e o efeito da crioconcentração em bloco no aumento nos teores de compostos nutricionais e fitoquímicos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Conhecer o potencial nutritivo da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) e os subprodutos (torta e casca) e, avaliar o emprego da crioconcentração nas propriedades nutricionais e fitoquímicas do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição nutricional da castanha, torta e casca de sapucaia.
- Determinar a composição mineral da castanha e torta de sapucaia.
- Determinar as características físico-químicas do óleo de castanha de sapucaia obtido por prensagem a frio.
- Determinar o perfil lipídico da castanha de sapucaia (perfil de ácidos graxos, tocoferóis, fitoesteróis e de triacilgliceróis).
- Obter extrato da castanha e da casca de sapucaia por extração assistida por ultrassom.
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu), taninos condensados (Vanilina) e a atividade antioxidante (ABTS, FRAP e DPPH) nos extratos de castanha e casca de sapucaia.
- Identificar os compostos fenólicos presentes nos extratos de castanha e casca de sapucaia por LC-ESI-MS/MS.
- Obter extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia e aplicar o processo de crioconcentração em bloco.
- Analisar no extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia inicial e em cada fração obtida pelo processo de crioconcentração em bloco: sólidos totais, composição nutricional, sólidos solúveis, composição mineral, acidez titulável, pH, densidade, cor, perfil de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS, teor de compostos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) e atividade antioxidante (ABTS e FRAP).

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. CASTANHAS COMESTÍVEIS

As castanhas comestíveis fazem parte da dieta há milhares de anos. São mundialmente valorizadas pelos seus atributos sensoriais e nutricionais, consumidas cruas ou torradas e utilizadas normalmente como lanches, aperitivo, em saladas ou em sobremesas (CHANG *et al.*, 2016). As castanhas são fontes ricas em nutrientes, com quantidades elevadas de lipídios (40 – 60%), proteínas (8 – 20%), fibra alimentar, vitaminas, minerais e compostos bioativos, como tocoferóis, fitoesteróis e polifenóis (VENKATACHALAM; SATHE, 2006; RYAN *et al.*, 2006; YANG, 2009; FREITAS; NAVES, 2010; CHANG *et al.*, 2016). Pesquisas recentes confirmam que uma dieta saudável suplementada com uma porção diária de castanhas atua na prevenção de doenças cardiovasculares e, possivelmente, na prevenção do desenvolvimento de outras doenças crônicas, incluindo diabetes tipo II, câncer, hipertensão arterial e doenças neurodegenerativas (ROS, 2009; KENDALL *et al.*, 2011; AFSHIN *et al.*, 2014; LUO *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2014; MICHA *et al.*, 2017).

As castanhas de maior produção e comercialização mundial são amêndoa, castanha de caju, nozes, pistache, avelã, noz pecan, macadâmia e castanha do Brasil (INC, 2017). Existem outras sementes comestíveis com características nutricionais semelhantes a elas, mas com classificação botânica diferente, como o amendoim e a amêndoa de baru (FREITAS; NAVES, 2010; SOUSA *et al.*, 2011; CHANG *et al.*, 2016).

O Brasil possui uma das maiores reservas de espécies vegetais nativas do mundo e uma rica diversidade de espécies frutíferas com potencial de uso pelo homem. Dentre estas, as principais sementes comestíveis e comercializadas nativas do Brasil são a castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) e castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.).

As florestas brasileiras possuem outras espécies nativas de castanhas ricas em nutrientes, porém são pouco conhecidas e estudadas, mas apresentam potencialidade para o mercado econômico de amêndoas. Neste contexto, encontra-se a espécie *Lecythis pisonis* Cambess, ou castanha de sapucaia.

1.2. CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess)

A castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) é uma espécie pertencente à família *Lecythidaceae* e originária da região

Amazônica. É uma espécie que abrange os biomas Amazônia e Mata Atlântica (LORENZI, 2002), podendo ser encontrada principalmente nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia, Piauí, Pernambuco, Maranhão, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Santa Catarina (USDA, 2017; ITTO, 2018). Além de ser encontrada no Brasil, também possui distribuição natural em países como Colômbia, Guiana, Peru e Suriname (ITTO, 2018).

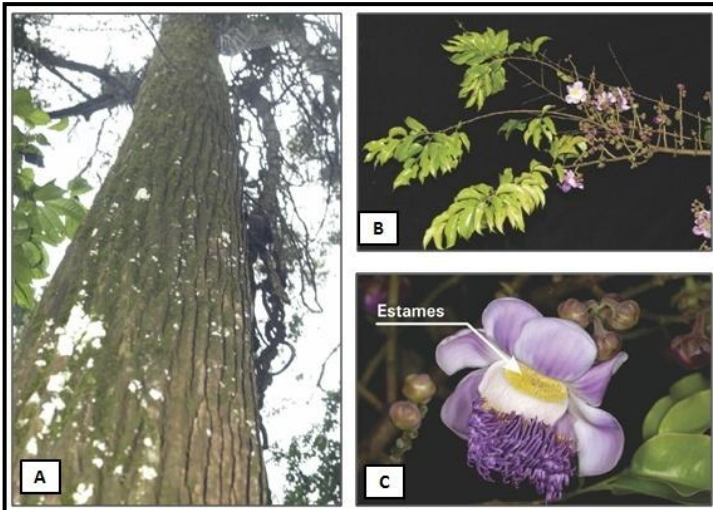
A árvore de sapucaia é considerada de grande porte e pode atingir uma altura média de 12 a 28 metros (Figura 1.1). Apresenta tronco cilíndrico de 50 a 70 cm de diâmetro, com casca acinzentada a marrom escuro e fissuras verticais (LORENZI, 2002) (Figura 1.2A). As folhas quando novas apresentam coloração avermelhada, creme ou verde claro e depois se tornam verde escuro, brotando antes da floração. Quando ocorre a floração, simultaneamente ocorre o aparecimento de folhas avermelhadas que dura todo o período de floração. As flores nascem em ramos abaixo das folhas, com 2 a 25 flores nos ramos, possuem de 3 a 7 cm de diâmetro, são carnosas, com coloração roxa e branca e com numerosos estames amarelo (LORENZI, 2002; SOUZA *et al.*, 2014; ITTO, 2018). Os meses de floração ocorrem de outubro a dezembro, podendo variar de acordo com cada região e/ou estado do Brasil, como, por exemplo, no Pará, de janeiro a junho; no Espírito Santo, de julho a novembro; em Tocantins, de julho a janeiro; em Minas Gerais e em Pernambuco, de agosto a janeiro; no Amazonas, em setembro; na Bahia, de agosto a janeiro; no Rio de Janeiro e São Paulo, de outubro a dezembro; no Maranhão, de novembro a dezembro; em Santa Catarina, em novembro (ITTO, 2018) (Figura 1.2 B e 1.2 C).

Figura 1.1: Árvore da Sapucaia em floração (*Lecythis pisonis* Cambess).



Fonte: Adaptado de Aves & Árvores. Disponível em: <http://www.avesarvores.com.br/2015/11/sapucaias-da-quinta-da-boa-vista.html>.

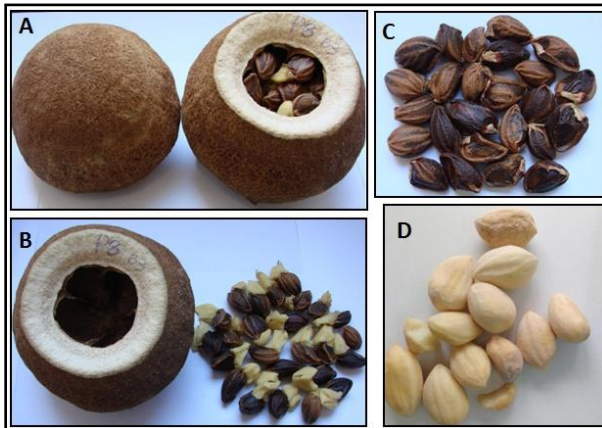
Figura 1.2: Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess): A) Tronco. B) Ramo com flores e botões florais. C) Flor com numerosos estames amarelos.



Fonte: Souza *et al.* (2014).

A frutificação ocorre de dezembro a abril, podendo variar de acordo com cada estado, como, em Pernambuco e no Estado de São Paulo, de dezembro a abril; em Minas Gerais, de março a abril; na Bahia, de março a maio; no Espírito Santo, de julho a setembro; e no Estado do Rio de Janeiro, em agosto. O fruto amadurece 7 meses após a fecundação das flores (ITTO, 2018). Os frutos são grandes e de casca dura, cuja tampa solta quando estes amadurecem, liberando as castanhas (sementes) de coloração marrom claro ou branca (LORENZI, 2002). Os frutos apresentam um peso entre 1-2,5 kg e em cada fruto contém em torno de 30 a 50 unidades de amêndoas, sendo que cada castanha pesa entre 4 e 14 g (WICKENS, 1995). As castanhas apresentam bastante variabilidade nas suas características biométricas, como na largura, espessura e massa, existindo dois tipos de frutos: um completamente arredondado e outro mais comprido. O primeiro é mais comum na região Norte e o segundo mais comum ao Sul. Contudo, os dois tipos de frutos já foram encontrados na mesma área (ITTO, 2018). Braga *et al.* (2007) encontraram sementes com valores médios de comprimento de 4,3 cm, largura de 2,6 cm, espessura de 2,0 cm e peso de 8,7 g, no entanto, Souza *et al.* (2008) constataram valores menores como, 2,4 cm de comprimento, 1,4 cm de diâmetro e peso médio de 2,3 g (Figura 1.3).

Figura 1.3: Castanha de Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess). A) Fruto maduro, com o opérculo aberto e, polpa e castanha no seu interior. B) Fruto vazio e castanhas com casca. C) Castanhas com casca. D) Castanhas sem casca.



Fonte: Próprio Autor.

As castanhas são consideradas saborosas e de sabor adocicado, superior ao da castanha do Brasil. Pode ser consumida crua, cozida ou torrada, podendo substituir outras amêndoas, nozes ou castanhas comuns. Também podem ser usadas como ingrediente para doces, confeitos e pratos salgados. As sementes germinam em torno de 7 a 10 dias e seu crescimento é considerado rápido, atingindo 60 cm em 1 ano e 4 metros e 5 anos. As árvores começam a produzir frutos com idade entre 8 e 10 anos. O rendimento pode chegar de 12 a 20 frutos no primeiro ano de frutificação (WICKENS, 1995).

É popularmente conhecida no Brasil como castanha de sapucaia, no entanto, recebe outras denominações de acordo com diferentes regiões e/ou estado, como, em Alagoas e Paraíba, Sapucaia e sapucaia de pilão; Amazonas e Tocantins, castanha de sapucaia; na Bahia, cambuca de macaco, castanha de sapucaia, combuca de macaco, marmita de macaco e sapucaia; no Ceará e Sergipe, sapucaia; no Espírito Santo e Estado de São Paulo, sapucaia vermelha; em Minas Gerais, caçamba de macaco, caçambeira, castanha sapucaia, castanheira, combuca de macaco, mamiteira e sapucaia; e em Pernambuco, coco de sapucaia e sapucaia (LORENZI, 2002; ITTO, 2018). Também é denominada de coco cristal, coco mono, na Colômbia; coco de mono, olla de mono, na Venezuela; machin mango, no Peru; e monkey pot, na Guiana (ITTO, 2018).

Diversas partes da sapucaia (folha, caule, casca, castanha) têm sido usadas na medicina popular. A infusão das folhas da sapucaia são utilizadas na forma de banho para o tratamento de coceiras no corpo (FRANCO; BARROS, 2006). A infusão da casca e do pericarpo é utilizada na medicina popular para doenças hepáticas (WICKENS, 1995). O pó ou o óleo da casca do caule da sapucaia é utilizado com diurético e para o tratamento da sífilis (GRANDI *et al.*, 1989; VIEIRA; MARTINS, 2000). O óleo extraído da castanha de sapucaia é utilizado como analgésico muscular (AGRA *et al.*, 2007). Estudo realizado por Brandão *et al.* (2013) com extrato etanólico da folha de *L. pisonis* comprovou efeito antinociceptivo em ratos. Silva *et al.* (2012) comprovou efeito anti-prurido da folha de sapucaia.

1.2.1. Composição nutricional da castanha de sapucaia

A castanha de sapucaia se caracteriza pelo alto conteúdo de lipídios e proteína. Os dados obtidos na literatura em relação à composição nutricional da castanha de sapucaia são escassos e a variação no teor de nutrientes pode ser explicada pela diferença de

clima, solo, e características genéticas das sementes analisadas. Na Tabela 1.1 está representada a composição nutricional da castanha de sapucaia obtida em diferentes estudos, com variação de acordo com a sazonalidade e a localização.

Tabela 1.1: Composição nutricional da castanha de sapucaia obtida em diferentes estudos.

Componentes nutricionais	Castanha de sapucaia			
	VALLILO <i>et al.</i> (1998) (São Paulo)	DENADAI <i>et al.</i> (2007) (São Paulo)	SOUZA <i>et al.</i> (2008) (Piauí)	CARVALHO <i>et al.</i> (2012) (Minas Gerais)
Umidade (%)	4,92	5,04	-	10,20
Cinzas (%)	3,91	3,80	3,43	3,17
Proteína bruta (%)	19,86	20,5	19,62	26,8
Lipídios totais (%)	63,03	60,6	66,0	54,8
Fibras (%)	-	5,67	-	-
Carboidratos (%)	3,91	4,42	-	5,0
Valor energético total (kcal. 100g ⁻¹)	684,0	645,0	737,0	621,0

-: não avaliado.

A castanha de sapucaia apresenta aminoácidos essenciais histidina (19,3 mg g⁻¹), isoleucina (29,5 mg g⁻¹), treonina (34,4 mg g⁻¹), fenilalanina (107 mg g⁻¹), lisina (82,1 mg g⁻¹), leucina (114 mg g⁻¹), metionina (89,6 mg g⁻¹) e valina (62,0 mg g⁻¹). Desta forma esta matéria-prima pode ser considerada uma boa fonte de aminoácidos essenciais para o consumo humano (DENADAI *et al.*, 2007).

De modo geral, as castanhas são ricas em minerais, que são essenciais na dieta. Esses elementos são fundamentais para uma variedade de funções, atuando como cofatores em diversos processos enzimáticos, na regulação do balanço ácido base, no sistema nervoso, atividade muscular e como elementos estruturais do corpo (YANG, 2009). Os dados obtidos na literatura em relação à composição mineral da castanha de sapucaia são apresentados na Tabela 1.2. Muitos minerais estão presentes na sapucaia, com os maiores destaques para os macrominerais P, K, Mg e Ca.

Tabela 1.2: Composição mineral da castanha de sapucaia.

Elementos	Vallilo <i>et al.</i> (1998) (µg/g)	Vallilo <i>et al.</i> (1999) (µg/g)	Denadai <i>et al.</i> (2007) (µg/g)	Naozuka <i>et al.</i> (2011) (µg/g)
Mg	1550	1240-1680	2790	2358-7336
Ca	1110	810-970	1720	1301-2513
Na	49800	-	5,28	-
K	46400	-	8900	5513-6959
B	64500	-	-	6,3-9,3
As	0,28	1,08-1,18	-	-
Fe	14,2	-	32,65	21-36
Mn	91,0	4,05-11,57	80,69	42-80
Pb	0,96	3,29-3,81	-	-
Se	0,28	-	-	-
Al	4,91	-	-	3,1-7,7
Sn	0,13	69,10-77,0	-	-
P	-	5250-6230	8750	5497-8714
Cu	-	2,91-3,35	32,76	7,9-11,5
Zn	-	2,92-13,74	40,37	32-49
Cd	-	0,26-0,27	-	-
Ba	-	-	-	33-240
S	-	-	-	3391-4124

-: não avaliado.

As castanhas comestíveis no geral são consideradas fontes importantes de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados (VENKATACHALAM; SATHE, 2006).

Os dados encontrados na literatura do perfil de ácidos graxos da castanha de sapucaia estão apresentados na Tabela 1.3. Os ácidos graxos predominantes na castanha de sapucaia são o linoléico e oléico. São encontrados em concentrações menores, os ácidos graxos palmítico, esteárico, palmitoléico e alfa linolênico.

Os elevados teores de ácidos graxos mono e poli-insaturados são considerados favoráveis uma vez que os mesmos contribuem para a redução das frações de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de muito baixa densidade (VLDL), responsáveis, em parte, pelo aumento do colesterol sérico. O efeito benéfico do consumo de castanhas comestíveis sobre o perfil sérico lipídico tem sido confirmado em diversos trabalhos (JENKINS *et al.*, 2008; SABATÉ *et al.*, 2010; DAMASCENO *et al.*, 2011; DAMASCENO *et al.*, 2013). Isto reforça a importância de estudos sobre as castanhas comestíveis e seus efeitos sobre a nutrição e saúde humana (JENKINS *et al.*, 2008; FREITAS *et al.*, 2010).

Tabela 1.3: Perfil de ácidos graxos do óleo da castanha de sapucaia.

Ácido graxo (%)	Vallilo <i>et al.</i> (1999)	Denadai <i>et al.</i> (2007)	Costa; Jorge (2012)	Teixeira <i>et al.</i> (2018)
Palmítico (C16:0)	10,68	12,14	14,49	14,7-21,38
Palmitoleico (C16:1)	-	0,19	0,21	0,32-0,44
Esteárico (C18:0)	5,63	6,31	5,84	9,63-11,09
Oleico (C18:1 n9)	34,30	33,94	38,82	35,54-44,28
Linoleico (C18:2 n6)	46,85	42,54	39,93	21,65-27,19
Linolênico (C18:3 n3)	-	0,19	0,24	0,29-0,36
Ararquídico (C20:0)	-	-	0,22	0,38-0,45
Saturado	16,30	18,64	20,76	-
Monoinsaturado	-	34,22	39,07	-
Poliinsaturado	-	42,73	40,18	-

Fonte: Próprio Autor.

1.3. COMPOSTOS FENÓLICOS

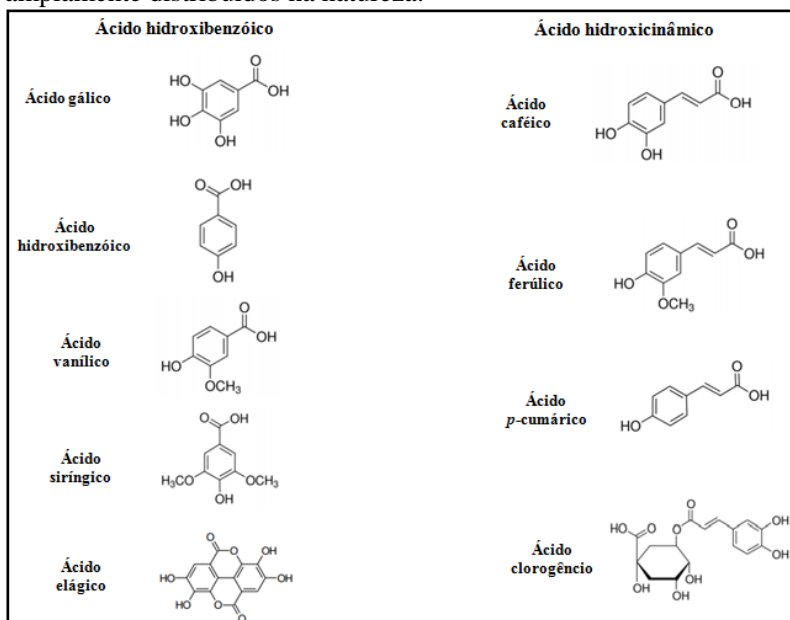
Os compostos fenólicos constituem um dos maiores e mais abundantes grupos de compostos bioativos presentes em vegetais. São metabólicos secundários sintetizados por plantas, sendo essenciais para o desenvolvimento e reprodução. Além disso, se formam em condições de estresse como infecções, ferimentos e radiações ultravioleta (KARAKAYA, 2004; NACZK; SHAHIDI, 2006). Em alimentos, os compostos fenólicos estão relacionados com a qualidade sensorial e nutricional, pois contribuem para amargura, adstringência, cor, sabor, odor e estabilidade oxidativa (NACZK; SHAHIDI, 2006; IGNAT *et al.*, 2011).

Quimicamente, os fenóis são definidos como substâncias que possuem pelo menos um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxila. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais (IGNAT *et al.*, 2011). Os fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas. A diversidade estrutural resulta numa grande variedade de compostos fenólicos na natureza, sendo que o número de anéis na estrutura é a principal forma de classificação. Os ácidos fenólicos, flavonóides e taninos são considerados como os principais compostos fenólicos na dieta (BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

Os ácidos fenólicos são divididos em dois subgrupos, isto é, os ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos. Os ácidos hidroxibenzóico possuem sete átomos de carbono (C_6-C_1) e incluem nesse grupo os ácidos gálico, *p*-hidroxibenzóico, vanílico, elágico e siringico (Figura 1.4). O outro subgrupo dos ácidos é o dos hidroxicinâmicos que apresentam em sua estrutura nove átomos de carbono (C_6-C_3) sendo os mais comuns que ocorrem naturalmente na sua forma livre são os ácidos caféico, ferúlico e *p*-cumárico e ácidos clorogênicos (MARQUES; FARAH, 2009).

O efeito biológico dos ácidos fenólicos é devido ao local da ligação, a posição dos grupamentos hidroxil, e o tipo de substituintes no anel aromático (GULÇIN, 2012). A introdução de grupo hidroxila na posição *orto* ou *para* aumenta a atividade antioxidante do ácido fenólico, assim como a presença de um grupo carboxila e quando este é separado do anel aromático também aumenta. Portanto, ácidos cinâmicos são mais efetivos como antioxidantes que os ácidos benzóicos (GULÇIN, 2012).

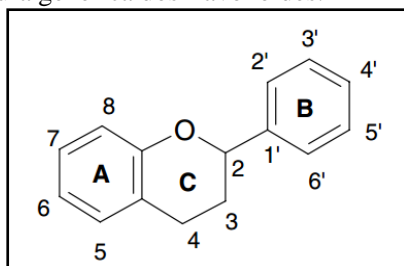
Figura 1.4: Estrutura química dos principais ácidos fenólicos mais amplamente distribuídos na natureza.



Fonte: Próprio Autor (Software ChemSketch®).

Os flavonóides constituem o maior grupo de fenóis em plantas, representando mais de metade dos oito mil compostos fenólicos naturais já identificados (BALASUNDRAM *et al.*, 2006; IGNAT *et al.*, 2011). Os flavonóides são compostos de baixa massa molecular, constituído por um núcleo flavan, que consiste em 15 átomos de carbono dispostos em 3 anéis (C6-C3-C6), os quais são denominados A, B e C (Figura 1.5).

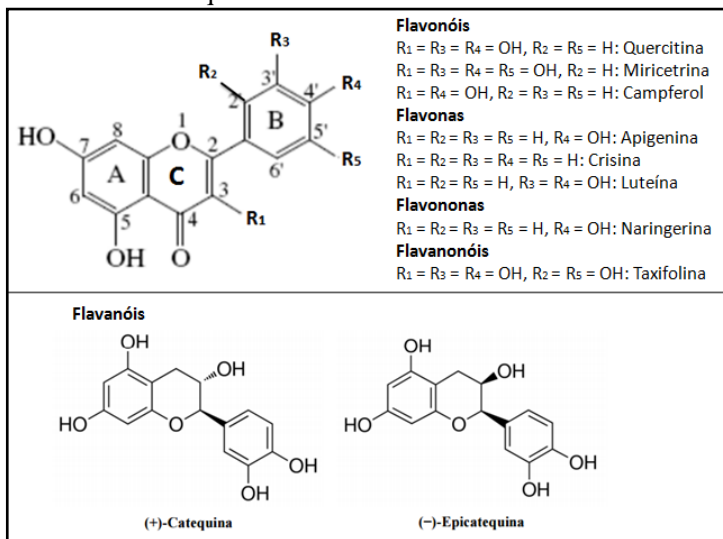
Figura 1.5: Estrutura genérica dos flavonóides.



Fonte: Balasundram *et al.* (2006).

Essencialmente, a estrutura consiste em dois anéis aromáticos A e B, unidos por uma ponte de 3 carbonos, geralmente na forma de um anel heterocíclico C. A presença de uma ligação dupla, um grupo carbonil e um grupo hidroxila no anel C serve como base para a classificação deles em várias classes e subclasses. A substituição dos anéis A e B por grupos hidroxila distinguem os membros individuais de cada classe. As variações nos padrões de substituição para o anel C resultam nas classes principais de flavonóides (Figura 1.6), isto é, flavonóis (quercetina, campferol e miricetina), flavonas (luteolina, crisina e apigenina), flavanonas (naringenina), flavanóis (catequina, epicatequina, epigalocatequina, epicatequina galato e epigalocatequina galato), flavanonóis (taxifolina), antocianidina, e isoflavonas (genisteína, daidzeína, dihidrodaidzeína e equol) (BALASUNDRAM *et al.*, 2006; IGNAT *et al.*, 2011).

Figura 1.6: Estrutura química dos flavonóides.



Fonte: Balasundram *et al.* (2006).

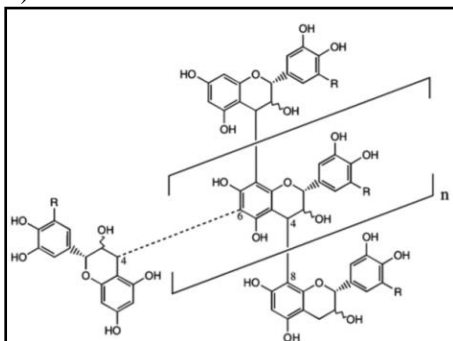
A atividade antioxidante e biológica dos flavonóides depende da sua estrutura química. Existem algumas estruturas responsáveis pela determinação da atividade antioxidante dos flavonóides, sendo eles: uma unidade de catecol (benzenodiol) do anel B, uma dupla ligação entre o carbono 2 e 3, um grupo hidroxila na posição-3 e um grupo carbonila na posição-4 do anel C do núcleo flavan. A combinação da unidade catecol com a ligação dupla e o grupamento hidroxila proporcionam aos flavonóides a capacidade de eliminação dos radicais livres. Um exemplo é a quercitina, que possui todos os grupos estruturais e, portanto, geralmente dá maior potencial antioxidante do que o campferol, que não possui parte catecol no anel B (GULÇIN, 2012).

Os flavanóis (flavan-3-óis) são compostos que apresentam uma hidroxila no carbono 3 do anel C, e ao contrário dos outros flavonóides, geralmente, são encontrados na forma aglicona (SHAHIDI; NACZK, 2004). Nesta classe se fazem presentes as catequinas, epicatequina e as proantocianidinas (SCHOFIELD *et al.*, 2001; IGNAT *et al.*, 2011).

Os taninos constituem o terceiro grupo importante de fenólicos e podem ser subdivididos em taninos hidrolisáveis e condensados (BALASUNDRAM *et al.*, 2006). As proantocianidinas (taninos condensados) são flavonóides poliméricos que produzem pigmentos

avermelhado da classe das antocianidinas, tais como a cianidina e delphinidina, após degradação com ácido mineral e aquecimento. A Figura 1.7 representa a estrutura química de um tanino condensado.

Figura 1.7: Estrutura química de um tanino condensado (proantocianidina).



Fonte: Schofield *et al.* (2001).

Os taninos têm efeitos diversos sobre os sistemas biológicos, uma vez que são potencialmente quelantes de íons metálicos, agentes precipitantes de proteínas e antioxidantes biológicos (IGNAT *et al.*, 2011).

Segundo Pérez-Jiménez *et al.* (2010) entre as fontes dietéticas que contêm maior teor de fitoquímicos as castanhas e nozes ficam em terceiro lugar, atrás de especiarias e frutas. Castanhas, nozes e seus subprodutos (pele, casca, folha, entre outros) são fontes ricas de compostos fenólicos que possuem propriedades multifuncionais como atividade antioxidante, cardioprotetor, antidiabético, hipocolesterolêmico, anticarcinogênica e ação anti-inflamatória (FUKUDA *et al.*, 2004; SIQUEIRA *et al.*, 2012; LUO *et al.*, 2014; CAIMARI *et al.*, 2015; GROSSO *et al.*, 2015). Estes compostos conferem proteção contra ação de radicais livres e podem reduzir o risco de doenças associadas ao estresse oxidativo (CHANG *et al.*, 2016).

1.3.1. Análise de compostos fenólicos

Uma série de métodos espectrofotométricos para a quantificação de fenólicos em plantas tem sido desenvolvido. O método Folin-Ciocalteu é um dos mais conhecidos e utilizados para determinação de compostos fenólicos totais, enquanto que os ensaios de

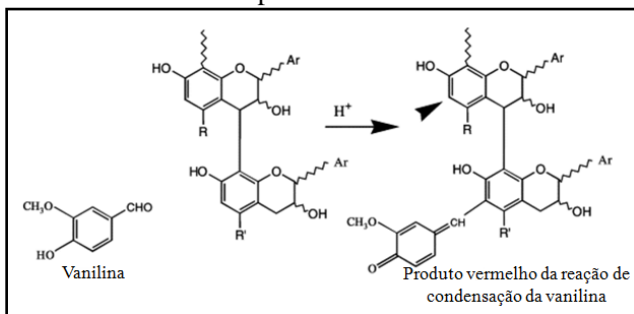
vanilina são mais utilizados para determinar proantocianidinas totais (taninos condensados) (SCHOFIELD *et al.*, 2001; NACZK *et al.*, 2003).

O ensaio de Folin-Ciocalteu baseia-se na redução do reagente de Folin-Ciocalteu por compostos fenólicos sob condições alcalinas. O reagente de Folin-Ciocalteu consiste na mistura de sais de molibdato de sódio, tungstato de sódio e outros reagentes. No teste, o grupo fenólico deve estar na forma de fenolato, afim de que os íons molibdato e tungstato sejam reduzidos produzindo coloração azulada, com absorção máxima a 764 nm. O ácido gálico é o padrão de referência comumente usado e os resultados de fenólicos totais são usualmente expressos como equivalentes de ácido gálico (MAGALHÃES *et al.*, 2008).

Diversos estudos foram aplicados para observar a correlação linear entre o teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante, no entanto, este ensaio tem sido questionado desde que se constatou que o reagente de Folin-Ciocalteu é propenso a interferências, levando a ser reduzido por outros compostos não-fenólicos (açúcar, aminas aromáticas, dióxido de enxofre, ácido ascórbico e ácidos orgânicos) e consequentemente resultam muitas vezes em sub ou superestimação do conteúdo (IGNAT *et al.*, 2011).

O teste da vanilina é muito utilizado para quantificar proantocianinas em vegetais. Este teste é específico para flavan-3-ols, di-hidrochalconas e proantocianinas que possuem uma ligação simples na posição 2-3 e uma hidroxila livre na posição *meta* do anel. O método de vanilina baseia-se na condensação da vanilina com proantocianidinas em soluções acidificadas. A vanilina protonada reage com o anel flavonóide na posição 6 ou 8 formando um produto final da reação de coloração vermelho (Figura 1.8). O padrão equivalente normalmente utilizado no teste da Vanilina é a catequina (SCHOFIELD *et al.*, 2001). De acordo com Schofield *et al.* (2001), o método vanilina depende da reação da vanilina com os taninos condensados e a formação de complexos coloridos. O sucesso deste ensaio depende do tipo do solvente usado, da concentração e da natureza do ácido, do tempo da reação, temperatura e concentração da vanilina.

Figura 1.8: Ensaio de vanilina para taninos condensados.



Fonte: Adaptado de Schofield *et al.* (2001).

Apesar dos métodos espectrofotométricos fornecerem informações quantitativas e qualitativas de forma simples e de baixo custo, estima somente o conteúdo total das classes de fenólicos e não dá separação e medição quantitativa dos compostos individuais (IGNAT *et al.*, 2011).

Entre os diferentes métodos disponíveis, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é o método mais adequado para a análise de misturas complexas de componentes fenólicos de origem vegetal. A introdução de colunas de fase reversa consideravelmente melhorou a separação de diferentes classes de compostos fenólicos por HPLC, sendo as colunas de fase reversa C18 quase exclusivamente empregadas. Acetonitrila e metanol são os modificadores orgânicos mais comumente utilizados. Vários suportes e fases móveis estão disponíveis para análises de compostos fenólicos incluindo antocianinas, proantocianidinas, taninos hidrolisáveis, flavonóis, flavanonas, flavonas e fenólicos ácidos em diferentes amostras de alimentos (NACZK; SHAHIDI, 2006; IGNAT *et al.*, 2011).

Os métodos de HPLC apresentam limitações, especialmente em matrizes complexas, como extratos brutos de plantas e amostras ambientais. Neste sentido, é fundamental uma pré-concentração inicial e purificação dos polifenóis a partir de matriz complexa. O objetivo da pré-concentração é simplificar os cromatogramas obtidos para que possam ser identificados e quantificados de forma confiável. O estágio de purificação é a parte crítica de um método, a remoção de componentes interferentes varia de acordo com a matriz vegetal a ser analisada (SCHOFIELD *et al.*, 2001).

A HPLC de fase reversa se tornou a ferramenta analítica dominante para separação e determinação de compostos fenólicos de baixa massa molecular. No entanto, essa técnica é geralmente demorada

e pode apresentar pobre resolução a partir do momento em que o comprimento da cadeia polimérica e a diversidade estrutural dos compostos fenólicos aumentam. A detecção de compostos de elevada massa molecular, bem como a determinação da distribuição da massa molecular, permanecem como os maiores desafios nas análises de polifenóis. Técnica de cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas (LC-MS) é uma ferramenta interessante para estudar polifenóis de diferentes fontes biológicas, e é mais efetiva no estudo da estrutura dos compostos fenólicos (IGNAT *et al.*, 2011).

A espectrometria de massa possui papel importante na pesquisa e seu poder analítico é relevante para estudos estruturais de compostos fenólicos. O princípio MS/MS consiste em compostos químicos ionizantes para gerar moléculas carregadas ou fragmentos de moléculas e medir suas proporções massa-carga (IGNAT *et al.*, 2011). Quatro etapas básicas estão envolvidas espectrometria de massas: 1) Ionização: o processo de ionização converte as moléculas ou átomos da amostra em espécies iônicas numa fase gasosa. 2) Fragmentação: a energia acumulada durante a ionização é dissipada quebrando as moléculas em fragmentos característicos e previsíveis para cada estrutura molecular. 3) Separação e análise das massas do íon molecular e seus fragmentos iônicos com base em suas razões massa/carga. 4) Detecção: a corrente iônica formada devido as massas iônicas separadas, é medida, amplificada e exibida na forma de um espectro de massas (OLIVEIRA, 2014). Análise por espectrometria de massa por ionização por electrospray (ESI) por injeção de fluxo direto pode ser utilizada para estabelecer impressões digitais de polifenol de extratos complexos (IGNAT *et al.*, 2011).

A LC-MS é atualmente a melhor abordagem analítica para o estudo de polifenóis em amostras vegetais, e é a ferramenta mais eficaz no estudo da estrutura das antocianinas. A LC-MS permite a caracterização de estruturas complexas, como procianidinas, proantocianidinas, prodelfinidinas e taninos, e fornece evidências experimentais para estruturas que antes eram apenas hipotetizadas (IGNAT *et al.*, 2011).

1.3.2. Avaliação da atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante determina o potencial antioxidante do alimento antes de ser ingerido e avalia a proteção contra a oxidação e a deterioração do alimento, reações que podem levar à

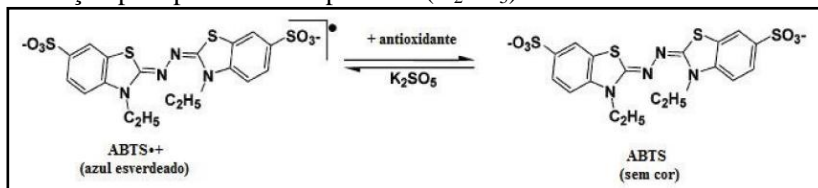
diminuição da sua qualidade e do seu valor nutricional (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

A literatura atual afirma claramente que não há métodos padronizados amplamente adotados para determinar a capacidade antioxidante total de alimentos ou amostras biológicas. Deve-se considerar o mecanismo de reação antioxidante no sistema para determinar os métodos mais apropriados para a medição (CÔMERT; GÖKMEN, 2018). É preconizada a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (SUCUPIRA *et al.*, 2012), por isso, é importante combinar mais de um método para determinar a atividade antioxidante *in vitro* em alimentos, para considerar os vários métodos de ação antioxidante e limitação de cada ensaio. Além disso, cada método fornece apenas uma estimativa da capacidade antioxidante que é subjetiva para suas condições e reagentes (CÔMERT; GÖKMEN, 2018).

Entre os métodos mais comuns encontrados na literatura para avaliação da capacidade antioxidante destaca-se a capacidade de remoção de radical orgânico ABTS - 2,20-azino-bis (ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico), peroxidação do radical DPPH - (2,2-difenil-1-picrylhydrazil) e capacidade de redução do ferro (FRAP - *ferric reducing antioxidant power*). Métodos baseados em transferência de elétrons (ABTS, DPPH e FRAP) apresentam vantagens distintas sobre ensaios baseados em transferência de átomos de hidrogênio, como simplicidade, disponibilidade e estabilidade de reagentes, reprodutibilidade em ampla faixa de concentração; portanto, esses métodos têm sido mais preferidos para determinar a capacidade antioxidante de alimentos ou amostras biológicas (CÔMERT; GÖKMEN, 2018).

O método do ABTS – [2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] baseia-se na geração do $ABTS^{\bullet+}$, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio, formando um cromóforo azul esverdeado de cor intensa, com absorção máxima a 645, 734 e 815 nm. Na medida em que o antioxidante é misturado com esse radical, ocorre a redução do $ABTS^{\bullet+}$ a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional (Figura 1.9). Os resultados são expressos em TEAC (capacidade antioxidante equivalente em Trolox) (RE *et al.*, 1999). Vale ressaltar que o radical $ABTS^{\bullet+}$ apresenta excelente estabilidade em determinadas condições de análise e é solúvel tanto em água quanto em solvente orgânico, pode ser utilizada tanto em amostras hidrofílica quanto lipofílica (GRANTO; NUNES, 2016).

Figura 1.9: Estabilização do radical $ABTS^{\bullet+}$ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio (K_2SO_5).



Fonte: Adaptado de Huang *et al.* (2005).

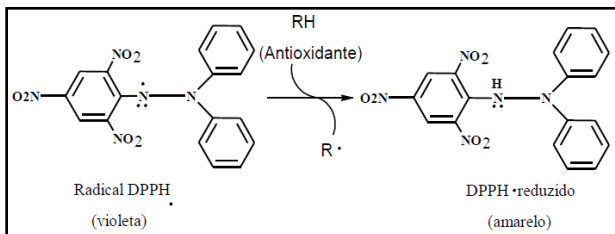
O DPPH é um método químico, aplicado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres, sendo um dos mais utilizados, pois ele é considerado um método rápido, prático e com boa estabilidade (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

O método consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil- DPPH \cdot . O radical DPPH \cdot é caracterizado como solúvel em meio orgânico (especialmente alcoólico) e insolúvel em meio aquoso, muito estável em virtude da deslocalização do elétron. Esse processo de deslocalização do elétron da origem a uma coloração violeta intensa, caracterizada pela absorção em solução de etanol centrada a cerca de 515 nm. Quando uma solução de DPPH \cdot é misturado com a de um substrato (antioxidante) ocorre à doação de um átomo de hidrogênio e conseqüentemente o DPPH \cdot é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarelo e com decréscimo da absorbância (Figura 1.10). Esta reação é amplamente utilizada para testar a habilidade de compostos em sequestrarem radicais livres, e assim, avaliar a capacidade antioxidante de alimentos e extratos vegetais (BRAND-WILLIANS *et al.*, 1995, ALAM *et al.*, 2013).

O método apresenta vantagens quando os antioxidantes analisados são mais solúveis em solventes orgânicos, e por ser um radical livre estável está disponível comercialmente, o que evita sua geração por distintas formas (como ocorre com o método ABTS), além de facilitar seu uso (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Os dados podem ser expressos em EC_{50} , que é a concentração de antioxidante requerida para o sequestro de 50% do radical DPPH em um período de tempo específico. Os resultados também podem ser expressos em TEAC (capacidade antioxidante equivalente em Trolox), através da medida do decréscimo da absorbância (BRAND-WILLIANS *et al.*, 1995).

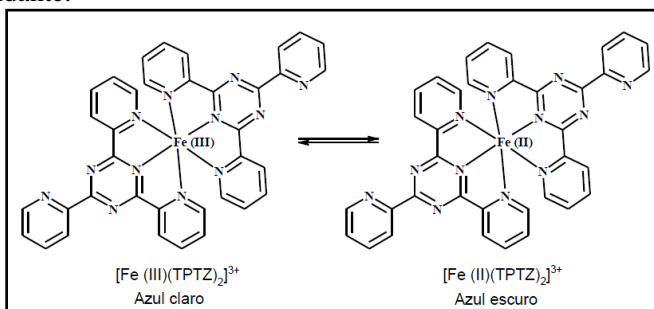
Figura 1.10: Estrutura do radical DPPH[•] e reação de estabilização com um antioxidante.



Fonte: Adaptado de Moon e Shibamoto (2009).

No ensaio do FRAP, a reação ocorre pela formação de um complexo TPTZ (2,4,6-tripiridyl-s-triazina) com o Fe (III), de cor amarelada. Na presença de um antioxidante e em condições ácidas, o ferro presente é reduzido, dando origem ao $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{3+}$, de coloração azul escura, com absorção de 595 nm (Figura 1.11).

Figura 1.11: Redução do Fe (III) a Fe (II) pela adição de um antioxidante.



Fonte: Adaptado de Huang *et al.* (2005).

A absorbância atinge um ponto final fixo e é interpolada através de uma curva analítica construídas com diferentes concentrações de Trolox, e os resultados são expressos em TEAC (capacidade antioxidante equivalente em Trolox)(BENZIE; STRAIN, 1996).

1.4. EXTRATO HIDROSSOLÚVEL VEGETAL

O consumo mundial de alimentos saudáveis tem aumentado à medida que as pessoas estão reconhecendo a necessidade de ter um estilo de vida saudável. Como consequência das novas tendências de

consumo, as indústrias de alimentos estão atualmente produzindo novos produtos nutricionalmente aprimorados com valor agregado.

A castanha *in natura* é a principal forma de consumo, entretanto, subprodutos como óleos, farinha ou torta e extrato hidrossolúvel podem ser explorados comercialmente. O extrato hidrossolúvel a base de castanha são produtos emulsionados em que a gordura da castanha é dispersa numa fase aquosa e onde os restantes componentes desempenham papéis diferentes na estabilidade do produto (BERNAT *et al.*, 2015). Os extratos hidrossolúveis vegetais, conhecidos popularmente como “leite” vegetal, representam uma alternativa viável, em razão da sua composição nutricional (PRUDÊNCIO e BENEDETI, 1999).

Um dos primeiros extratos hidrossolúveis vegetais a serem comercializados foi o de soja. Nos últimos anos diversos estudos desenvolveram extrato hidrossolúvel de diferentes matérias primas vegetais, como, por exemplo: Ferberg *et al.* (2002) desenvolveram extrato hidrossolúvel de castanha do Brasil e avaliaram os efeitos das condições de extração no rendimento e qualidade do produto e obtiveram melhores condições de extração a 75 °C; Soares Junior *et al.* (2010) desenvolveram extrato hidrossolúvel de arroz integral e de quinoa de arroz; Morais *et al.* (2010) elaboraram extrato hidrossolúvel de castanha de caju e obtiveram aceitabilidade satisfatória junto aos julgadores; Bicudo *et al.* (2012) desenvolveram uma bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa; Shakerardekani *et al.* (2013), desenvolveram extrato hidrossolúvel de pistache; e Gul *et al.* (2017) desenvolveram extrato hidrossolúvel a partir da torta de avelã e aplicaram tecnologia de homogeneização a alta pressão.

O desenvolvimento do extrato hidrossolúvel da castanha a partir de seu subproduto, como a torta, também é uma boa alternativa visando à sustentabilidade e o desenvolvimento de novos produtos altamente nutritivos.

A torta é subproduto da extração do óleo da castanha e é parcialmente desengordurado. Souza; Menezes, (2004) avaliaram a torta de castanha do Brasil e constataram que possui valores de proteínas, fibras e minerais (principalmente o selênio) maiores que da própria castanha. A torta apresenta inúmeras possibilidades de aplicação, visando o enriquecimento de uma grande variedade de grupos de alimentos, tais como: produtos para panificação, bebidas, farinhas, cereais, salgados, doces, sorvetes, chocolates e biscoitos (SOUZA; MENEZES, 2004; DEMIRKESEN *et al.*, 2010; SINGH *et al.*, 2011; MIR, BOSCO, & SHAH, 2017). Além disso, pode ser uma alternativa para a produção de extrato hidrossolúvel vegetal, visando um novo ingrediente

a ser incorporado em novas matrizes de alimentos para melhorar seus aspectos nutricionais e funcionais.

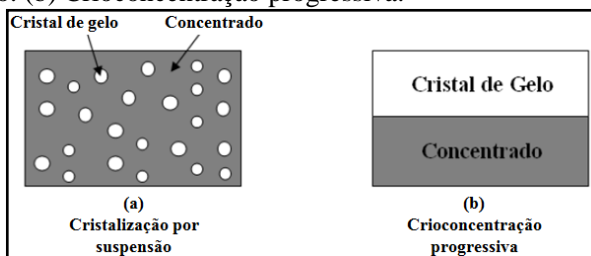
1.5. CRIOCONCENTRAÇÃO

A crioconcentração é um processo de concentração da matéria sólida contida na fase aquosa através do congelamento e remoção de parte da água sob forma de gelo (AIDER; DE HALLEUX, 2009; BELÉN *et al.*, 2012). Esta tecnologia é atraente para alimentos líquidos sensíveis ao calor, uma vez que preserva ao máximo as qualidades organolépticas e os compostos como, proteína, ácidos graxos, vitaminas, polifenóis e compostos aromáticos voláteis (AIDER; DE HALLEUX, 2009; BOAVENTURA *et al.*, 2013).

Existem diferentes métodos de aplicação da crioconcentração como, cristalização por suspensão, crioconcentração progressiva, eutéctica e em blocos (parcial ou completa) (AIDER; DE HALLEUX, 2009). O método de cristalização em suspensão (Figura 1.12a) é a forma de crioconcentração que apresenta o sistema mais caro e complexo. O sistema é composto por trocador de calor de paredes raspadas para a geração dos cristais de gelo, tubo de recristalização para o crescimento dos cristais e torre de lavagem para a separação dos cristais de gelo. Nesse processo, é fundamental que ocorra a separação de cristais de gelo da solução concentrada, ou solução mãe (MIYAWAKI *et al.*, 2005; AIDER; DE HALLEUX, 2009).

O método de crioconcentração progressiva (Figura 1.12b) promove a formação de um grande cristal de gelo ao invés de vários cristais de gelo menores, como no método de cristalização por suspensão. Nesse sistema, o cristal é formado na superfície de resfriamento do reservatório de cristalização de modo que ocorra a separação entre o cristal de gelo e a solução concentrada (solução mãe). Esse sistema é considerado muito simples, de modo que o custo do processo diminui substancialmente (MIYAWAKI *et al.*, 2005; AIDER; DE HALLEUX, 2009).

Figura 1.12: Métodos de crioconcentração. (a) Cristalização por suspensão. (b) Crioconcentração progressiva.



Fonte: Adaptado de Miyawaki *et al.* (2005).

O método de crioconcentração eutética é baseado no princípio da separação de sais inorgânicos e suas soluções aquosas, em que ocorre simultaneamente a cristalização dos sais e do gelo. Este processo é realizado pelo resfriamento da solução perto ou abaixo da temperatura eutética, considerando que o ponto eutético é quando todos os constituintes cristalizam, simultaneamente, à temperatura de fusão da solução líquida. As vantagens desta técnica estão principalmente no baixo consumo de energia e na alta pureza dos produtos (HIMAWAN *et al.*, 2002; AIDER; DE HALLEUX, 2009, 2009).

O método de crioconcentração em blocos, de forma parcial, baseia-se na introdução de uma solução alimentar líquida em uma câmara de cristalização e no congelamento parcial do centro, através da introdução de um tubo com um agente refrigerante. À medida que o bloco de gelo aumenta a concentração da solução também aumenta (AIDER; DE HALLEUX, 2009, 2009).

O método de crioconcentração em blocos, de forma completa, consiste no congelamento total da solução seguida pelo descongelamento parcial, sob a separação gravitacional simples. Neste método são obtidas duas frações, a primeira, a fração de concentrado (solução mãe) e a segunda, a fração de gelo contendo o mínimo de matéria seca. A eficiência desse processo é dependente da taxa de impurezas no gelo. Nestas condições, o bloco de gelo atua como uma carcaça sólida através do qual a fração do fluido rico em sólidos passa. Através do controle da temperatura de descongelamento, é possível alcançar uma eficiência de processo superior a 90%, o que significa que a quantidade de soluto aprisionado no cristal de gelo é reduzida a um nível mínimo (AIDER; DE HALLEUX, 2009; BELÉN *et al.*, 2012).

Do ponto de vista da indústria de alimentos, a crioc Concentração é uma tecnologia muito adequada devido à capacidade de preservar a qualidade nutricional dos alimentos concentrados, reduzir custos totais (incluindo capital, energia e limpeza) e ainda, apresenta baixa deterioração química em consequência da diminuição da atividade enzimática e microbiológica (YEE *et al.*, 2003; SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

Considerando estas vantagens, a tecnologia de crioc Concentração tem sido investigada por vários pesquisadores para sua aplicação em uma variedade de alimentos líquidos. Alguns estudos empregaram a técnica de crioc Concentração em sucos de fruta, como o de Hernández *et al.* (2009) que estudou o processo de crioc Concentração em sucos de maçã e pêra e observaram aumento nos teores de sólidos solúveis de ambas as amostras. Sánchez *et al.* (2010) empregaram a técnica de crioc Concentração em suco de laranja e também obtiveram aumento nos teores de sólidos solúveis. Aider; Halleux (2008) aplicaram crioc Concentração em sucos de cereja e damasco e obtiveram um aumento do conteúdo de ácido ascórbico e compostos aromáticos em ambos os sucos. Estudos aplicando a técnica de crioc Concentração em soro lácteo foram realizados por Aider *et al.* (2007) que reportaram preservação na composição nutricional, obtendo um produto final com, aproximadamente, 35% de sólidos totais e 20% de proteína. Aider; de Halleux. (2009) e Sánchez *et al.* (2011) também observaram aumento no teor de sólidos totais após aplicação da técnica de crioc Concentração em soro lácteo. Benedetti *et al.* (2015) aplicaram processos de crioc Concentração de blocos em soro de tofu e obtiveram aumento do teor de isoflavonas e da atividade antioxidante em todos os estágios de concentração. Moreno *et al.* (2014) verificaram que a crioc Concentração é uma técnica efetiva para preservar as propriedades funcionais de alimentos como o café, pois proporcionou aumento dos teores dos compostos bioativos, e consequentemente aumento da atividade antioxidante *in vitro* do extrato. Boaventura *et al.* (2013) apresentaram resultados positivos para compostos fenólicos do extrato aquoso de erva mate, na aplicação da crioc Concentração, verificando aumento nos compostos fenólicos. Adorno *et al.* (2016) aplicaram o processo de crioc Concentração no suco de morango e a partir dos resultados obtidos consideraram esta técnica uma boa alternativa para melhorar o teor de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante. Ainda, Berenhauser *et al.* (2017), aplicou a técnica de crioc Concentração em bloco no leite humano e verificou um melhoramento no teor de sólidos totais e proteína, sugerindo ser uma alternativa viável para o melhoramento do ganho de peso e do crescimento de bebês prematuros.

REFERÊNCIAS

ADORNO, W. T.; REZZADORI, K.; AREND, G. D.; CHAVES, V. C.; REGINATTO, F. H.; LUCCIO, M. D.; PETRUS, J. C. C. Enhancement of phenolic compounds content and antioxidant activity of strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) juice by block freeze concentration technology. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 52, p. 781-787, 2016.

AFSHIN, A.; MICHA, R.; KHATIBZADEH, S.; MOZAFFARIAN, D. Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: A systematic review and meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.100, p. 278–288, 2014.

AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, n.1, p.114-140, 2007.

AIDER, M.; DE HALLEUX, D.; AKBACHE, A. Whey cryoconcentration and impact on its composition. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 92-102, 2007.

AIDER, M.; HALLEUX, D. Production of concentrated cherry and apricot juices by cryoconcentration technology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p.1768-1775, 2008.

AIDER, M.; DE HALLEUX, D. Cryoconcentration technology in the bio-food industry: Principles and applications. **LWT- Food Science and Technology**, v. 42, p. 679-685, 2009.

ALAM, M.N.; BRISTI, N.J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v.21, n.2, p.143-150, 2013.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agrindustrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.

BELÉN, F.; SÁNCHEZ, J.; HERNÁNDEZ, E.; AULEDA, J.M.; RAVENTÓS, M. One option for the management of wastewater from

tofu production: Freeze concentration in a falling-film system. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 364-373, 2012.

BENEDETTI, S.; PRUDÊNCIO, E.; NUNES, G.; GUIZONI, K.; FOGAÇA, L.; PETRUS, J. C. Antioxidant properties of tofu whey concentrate by freeze concentration and nanofiltration processes. **Journal of Food Engineering**, v. 160, p. 49-55, 2015.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, n.1, p.70-76, 1996.

BERENHAUSER, A. C.; CANELLA, M. H. M.; MUÑOZ, I. B.; PRUDENCIO, E. S.; OLIVEIRA, J. V.; BLOCK, J. M. The Impact of the Block Freeze Concentration Process on Human Milk Properties Intended for Feeding Newborns. **Food and Nutrition Sciences**, v. 8, p. 402-418, 2017.

BERNAT, N.; CHÁFER, M.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, J.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. **LWT - Food Science and Technology**. v. 62, p. 488-496, 2015.

BICUDO, M. O. P.; VASQUES, E. C.; ZUIM, D. R.; CANDIDO, L. M. B. Elaboração e caracterização de bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa com polpa de frutas. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 19-26, 2012.

BOAVENTURA, B.C.B.; MURAKAMI, A.N.N.; PRUDÊNCIO, E.S.; MARASCHIN, M.; MURAKAMI, F.S.; AMANTE, E.R. Enhancement of bioactive compounds content and antioxidant activity of aqueous extract of mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) through freeze concentration technology. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 686–692, 2013.

BRAGA, L.F.; SOUSA, M.P.; GILBERTI, S.; CARVALHO, M.A.C. Caracterização morfométrica de sementes de castanhade sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess - Lecythidaceae). **Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta**, v.5, n.1, p.111 - 116, 2007.

BRANDÃO, M. S.; PEREIRA, S. S.; LIMA, D. F.; OLIVEIRA, J. P. C.; FERREIRA, E. L. F.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C. Antinociceptive effect of *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) in models of acute pain in mice. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 146, p. 180-186, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, A.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v.28, p. 25–30, 1995.

CAIMARI, A.; PUIGGROS, F.; SUAREZ, M.; CRESCENTI, A.; LAOS, S.; RUIZ, J.A.; ALONSO, V.; MORAGAS, J.; DEL BAS, J.M.; AROLA, L. The intake of a hazelnut skin extract improves the plasma lipid profile and reduces the lithocholic/deoxycholic bile acid faecal ratio, a risk factor for colon cancer, in hamsters fed a high-fat diet. **Food Chemistry**, v. 167, p. 138–144, 2015.

CARVALHO, I. M. M.; QUEIROS, L. D.; BRITO, L. F.; SANTOS, F. A.; BANDEIRA, A.V. M.; SOUZA A. L.; QUEIROZ, J. H. Caracterização química da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) da região da zona da mata mineira. **Bioscience Journal**, v.28, n.6, p.971-977, 2012.

CHANG, S.K.; ALASALVAR, C.; BOLLING, B.; SHAHDI, F. Nuts and their co-products: The impact of processing (roasting) on phenolics, bioavailability, and health benefits – A comprehensive review. **Journal of Functional Foods**, v.26, p.88-122, 2016.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v.105, p.76-93, 2018.

COSTA, T.; JORGE, N. Characterization and fatty acids profile of the oils from Amazon nuts and walnuts: characterization and fatty acids profile of the oil seeds. **Nutrition and Food Science**. v. 42, p. 279–87, 2012.

DAMASCENO, N.R.T.; PÉREZ-HERAS, A.; SERRA, M.; et al. Crossover study of diets enriched with virgin olive, walnuts or almonds. Effects on lipids and other cardiovascular risk markers. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v.21, p.s14-s20, 2011.

DAMASCENO, N.R.T.; SALA-VILA, A.; COFÁN, M.; PÉREZ-HERAS, A.; FITÓ, M.; RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M.A.; CORLLA, D.; ARÓS, F.; ESTRUCH, R.; ROS, E. Mediterranean diet supplemented with nuts reduces waist circumference and shifts lipoprotein subfractions to a less atherogenic pattern in subjects at high cardiovascular risk. **Atherosclerosis**, v. 230, n.2, p.347-353, 2013.

DENADAI, S.M.S.; HIANE, P.A.; MARANGONI, S.; BALDASSO, P.A.; MIGUEL, A.M.R.O.; MACEDO, M.L.R. In vitro digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, p.535-543, 2007.

DEMIRKESEN, I.; MERT, B.; SUMNU, G.; SAHIN, S. Utilization of chestnut flour in gluten-free bread. **Journal of Food Engineering**, v.101, p.329-336, 2010.

FERBERG, I.; CABRAL, L.C.; GONÇALVES, E.B.; DELIZA, R. Efeito das condições de extração no rendimento e qualidade do leite de castanha-do-Brasil despelculada. **B.CEPPA**, Curitiba, v.20, n.1, p.75-88, 2002.

FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Uso e Diversidade de plantas Medicinais no Quilombo Olho D'agua dos Pires, Esperantina, Piauí. **Revista Brasileira de Medicina**, v.8, n.3, p.78-88, 2006.

FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com anutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 269-279, 2010.

FUKUDA, T.; ITO, H.; YOSHIDA, T. Effect of the walnut polyphenol fraction on oxidative stress in type 2 diabetes mice. **Biofactors** (Oxford, England), v. 21, p. 251–253, 2004.

GRANATO, D.; NUNES, D. S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle da qualidade de alimentos e bebidas: uma abordagem teórica-prática**. 1ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

GRANDI, T.S.M.; TRINDADE, J.A.; PINTO, M.J.F.; FERREIRA, L.L.; CATELLA, A.C. Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil. **Acta Boto Bras.**, v. 3, n.2, 1989.

GROSSO, G.; YANG, J.; MARVENTANO, S.; MICEK, A.; GALVANO, F.; KALES, S.N. Nut consumption on all-cause, cardiovascular, and cancer mortality risk: A systematic review and meta-analysis of epidemiologic studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 101, p. 783–793, 2015.

GUL, O.; SARICA OGLU, F. T.; MORTAS, M.; ATALAR, I.; YAZICI, F. Effect of high pressure homogenization (HPH) on microstructure and rheological properties of hazelnut milk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 41, p. 411–420, 2017.

GULÇIN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, p. 345-391, 2012.

HERNÁNDEZ, E.; RAVENTÓS, M.; AULEDA, J. M.; IBARZ, A. Concentration of apple and pear juices in amulti-plate freeze concentrator. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 3, p. 348-355, 2009.

HIMAWAN, C.; VAESSEN, R.J.C.; KRAMER, H.J.M.; SECKLER, M.M.; WITKAMP, G.J. Dynamic modeling and simulation of eutectic freeze crystallization. **Journal of Crystal Growth**, v. 237–239, n.3, p. 2257–2263, 2002.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da extração vegetal e da silvicultura** 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2017>>. Acesso: 06 outubro de 2018.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. A critical review of methods for characterization of phenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v.126, n.4, p.1821– 1835, 2011.

INC - International Nut and Dried Fruit Council Foundation. **Nut And Dried Fruit Global Statistical Review 2017/2018**. Espanha: p. 1-76. 2017.

ITTO. **Sapucaia (*Lecythis pisonis*)**. Disponível em: <<http://www.tropicaltimber.info/pt-br/specie/sapucaia-lecythis-pisonis/>>. Acesso em: 01 de agosto de 2018.

JENKINS, D. J.; KENDALL, C. W.; MARCHIE, A.; JOSSE, A. R.; NGUYEN, T. H.; FAULKNER, D.; LAPSELY, K.G.; BLUMBERG, J. Almonds reduce biomarkers of lipid peroxidation in older hyperlipidemic subjects. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 138, n. 5, p. 908-13, 2008.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Crit. Rev. Food Sci Nutr.**, v.44, n.6, p.453-464, 2004.

KENDALL, C.W.C.; ESFAHANI, A.; JOSSE, A.R.; AUGUSTIN, L.S.A.; VIDGEN, E.; JENKINS, D.J.A. The glycemic effect of nut-enriched meals in healthy and diabetic subjects. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. 1, p. 34-39, 2011.

LIU, R. H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.78, p. 517-520, 2003.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. Ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LUO, C.; ZHANG, Y.; DING, Y.; SHAN, Z.; CHEN, S.; YU, M; HU, F.B.; LIU, L. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, p. 256-269, 2014.

MAGALHÃES, L.M.; SEGUNDO, M.A.; REIS, S.; LIMA, J.L.F.C. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, p. 1-19, 2008.

MARQUES, V.; FARAH, A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1370-1376, 2009.

MICHA, R.; PEÑALVO, J.L.; CUDHEA, F.; IMAMURA, F.; REHM, C.D.; MOZAFFARIAN, D. Association between dietary factors and mortality from heart disease, stroke, and type 2 diabetes in the United States. **Jama**, v.317, n.9, p.912-924, 2017.

MIR, S.A.; DON BOSCO, S.J.; SHAH, M.A. Technological and nutritional properties of gluten-free snacks based on brown rice and chestnut flour. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. In Press. (<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.02.002>), 2017.

MIYAWAKI, O.; LIU, L.; SHIRAI, Y.; SAKASHITA, S.; KAGITANI, K. Tubular ice system for scale-up of progressive freeze-concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 69, p. 107-113, 2005.

MOON, J.K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. **J. Agric. Food Chem.**, v. 57, n. 5, p. 1655–1666, 2009.

MORAIS, A.C.S.; RODRIGUES, M.C.P.; REBOUÇAS, M.C.; PENHA, M.F.A. Seleção de julgadores e avaliação de diferença sensorial entre extratos hidrossolúveis da amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale L.*). **B.Ceppa**, Curitiba, v. 28, n. 2, p. 281-288, 2010.

MORENO, F.L.; RAVENTÓS, M.; HERMÁNDEZ, E.; RUIZ, Y. Block freeze-concentration of coffee extract: Effect of freezing and thawing stages on solute recovery and bioactive compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 120, p. 158-166, 2014.

NACZK, M.; AMAROWICZ, R.; ZADERNOWSKI, R.; PEGG, R.B.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of crude phenolic extracts from wild blueberry leaves. **Pol. J. Food Nutr. Sci.**, v.12/53, n.1, p.166-169, 2003.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, n.2, p.1523-1542, 2006.

NAOZUKA, J.; VIEIRA, E. C.; NASCIMENTO, A. N.; OLIVEIRA, P. V. Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP OES. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1667-1672, 2011.

OLIVEIRA, D. S. **Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa (MG), 2014.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; NEVEU, V.; VOS, FE.; SCALBERT, A. Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, p. 112–120, 2010.

PRUDÊNCIO, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. Aproveitamento do soro de queijo na obtenção do extrato hidrossolúvel de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p.97-101, 1999.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, n.9-10, p.1231–1237, 1999.

ROS, E. Nuts and novel biomarkers os cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 89, p. 1649-1656, 2009.

RYAN, E.; GALVIN, K.; O'CONNOR, T.P.; MAGUIRE, A.R.; O'BRIEN, N.M. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.57, n.3, p.219-228, 2006.

SABATÉ, J.; ODA, K.; ROS, E. Nut consumption and bood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials. **Arch Intem. Med.**, v.170, p.821-827, 2010.

SÁNCHEZ, J.; RUIZ, Y.; RAVENTÓS, M.; AULEDA, J.M.; HERNÁNDEZ, E. Progressive freeze concentration of orange juice in a pilot plant falling film. Innovative **Food Science and Emerging Technologies**, v.11, p. 644-651, 2010.

SÁNCHEZ, J.; HERNÁNDEZ, E.; AULEDA, J.M.; RAVENTÓS, M. et al. Freeze concentration of whey in a falling-film based pilot plant: Process and characterization. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 147–155, 2011.

SCHOFIELD, P.; PELL, A. N.; MBUGUA, D. M. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 21-40, 2001.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals. Florida: CRC Press**, p. 558, 2004.

SILVA, L. L.; GOMES, B. S.; SOUSA-NETO, B. P.; OLIVEIRA, J. P. C.; FERREIRA, E. L. F.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A. Effects of *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) in a mouse model of pruritus. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 139, p. 90-97, 2012.

SINGH, G.D.; RIAR, C.S.; SAINI, C.; BAWA, A.S.; SOGI, D.S.; SAXENA, D.C. Indian water chestnut flour-method optimization for preparation, its physicochemical, morphological, pasting properties and its potential in cookies preparation. **LWT - Food Science and Technology**, 44, 665-672, 2011.

SIQUEIRA, E.M.A.; MARIN. A.M.F.; CUNHA, M.S.B.; FUSTINONI, A.M.; ARRUDA, S.F. Consumption of baru seeds [*Dipteryx alata* Vog.], a Brazilian savanna nut, prevents iron-induced oxidative stress in rats. **Food Research International**,v. 45, n. 1, p. 427–433, 2012.

SHAKERARDEKANI, A.; KARIM, R. e VASELI, N. The effect of processing variables on the quality and acceptability of pistachio milk. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.37, p.541–545, 2013.

SOARES JUNIOR, M. S.; BASSINELLO, P. Z.; CALIARI, M.; VELASCO, P.; REIS, R. C.; CARVALHO, W. T. Bebidas saborizadas obtidas de extratos de quirera de arroz, de arroz integral e de soja. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 407-413, 2010.

SOUSA, A.G.O.; FERNANDES, D.C.; ALVES, A.M.; FREITAS, J.B.; NAVES, M.M.V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**,v.44, p.2319-2325,2011.

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

SOUZA, V. A. B.; CARVALHO, M. G.; SANTOS, K. S.; FERREIRA, C. S. Características físicas de frutos e amêndoas e características químicas nutricionais de amêndoas de acessos de sapucaia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.4, p. 946-952, 2008.

SOUZA, A.S.; MARGALHO, L.; PRANCE, G.T.; GURGEL, E.S.C.; GOMES, J.I.; CARVALHO, L.T.; SILVA, R.C.V.M. **Conhecendo Espécies de Plantas da Amazônia: Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess. – *Lecythidaceae*)**. Belém – EMBRAPA – Pará, 2014. (EMBRAPA – Pará . Comunicado Técnico 250 - ISSN 1983-0505), 2014.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.14, n.4, p.263-269, 2012.

TEIXEIRA, G. L.; ÁVILA, S.; RIBANI, M.; SILVEIRA, J. L. M.; RIBANI, R. H. Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils: a potential source of vegetable oil in industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. V.131, p. 2105-2121, 2018.

USDA - **United States Department of Agriculture**. (2017). Agricultural Research Service – ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=21714>. Accessed 06 January 2018.

VALLILO, M.I.; TAVARES, M.; PIMENTEL, S.A.; BADOLATO, E.S.G.; INOMATA, E.I. caracterização química parcial das sementes de *Lecythis pisonis* Camb. (Sapucaia). **Acta Amazonica**, v.28, n.2, 0.131-140, 1998.

VALLILO, M.I.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL,S.; CAMPOS, N.C.; MOITA NETO, J.M. Lecythis pisonis Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**, v. 66, p.197-200, 1999.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S.K. Chemical Composition of Selected Edible Nut Seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v.54, p.4705–4714, 2006.

VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do cerrado: uma compilacao de dados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.3, n.1, p.13-36, 2000.

WICKENS, G. E. **Edible nuts**. Roma: FAO, 1995. 198 p. (Non Wood Forest Products, 5). FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Rome, p. 60-71, 1995.

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

YEE, P.L.; WAKISAKA, M.; SHIRAI, Y.; HASSAN, M.A. Effects of single food components on freeze concentration by freezing and thawing technique. **Japan Journal of Food Engineering**, v. 4, p. 77-83, 2003.

ZHOU, D.; YU, H.; HE, F.; REILLY, K.H.; ZHANG, J.; LI, S.; ZHANG, T.; WANG, B.; DING, Y.; XI, B. Nut consumption in relation to cardiovascular disease risk and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.100, p. 270–277, 2014.

CAPÍTULO 2 - COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E PERFIL LIPÍDICO DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess) E SEUS SUBPRODUTOS.

Esse capítulo foi baseado no artigo intitulado “Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: a promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile”, publicado na revista “Food Research International”.
(<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.028>).

CAPÍTULO 2 - COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E PERFIL LIPÍDICO DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess) E SEUS SUBPRODUTOS.

RESUMO

Sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) é uma espécie originária da Amazônia brasileira que abrange os biomas Amazônia e Mata Atlântica. Neste estudo foi determinada a composição nutricional da castanha de sapucaia, torta e casca; o teor de minerais da castanha e da torta; e o perfil lipídico do óleo da castanha (ácidos graxos, tocoferóis, fitoesteróis e triacilgliceróis). As castanhas e tortas apresentaram alto teor de lipídio (47,9 a 60,8 g 100 g⁻¹), proteína (15,8 a 19,5 g 100g⁻¹), fibra alimentar (16,5 a 22,6 g 100 g⁻¹) e selênio (26,4 a 46,94 µg g⁻¹). O óleo apresentou elevada composição de ácidos graxos insaturados (39,7 a 45,4% de ácido oléico e 32,2 a 46,6% de ácido linoléico) e Índice de Estabilidade Oxidativa (8,57-12,95 horas), indicando a presença de compostos antioxidantes no óleo. Os principais triacilgliceróis no óleo de sapucaia foram LLO, PLO, LOO, POO, OOO, PLL e LLL. Os principais lipídeos bioativos identificados no óleo foram γ -tocoferol (19,2 a 28,5 mg 100 g⁻¹) e β -sitosterol (92,8 a 194 mg 100 g⁻¹). Os resultados mostraram que a castanha de sapucaia e seus subprodutos são uma fonte natural promissora de compostos bioativos e nutricionais e quando presentes na dieta podem contribuir para a manutenção da saúde humana. Além disso, a castanha e o subproduto representam uma matéria-prima promissora para a indústria de alimentos.

Palavras-chave: Minerais. Selênio. Ácidos graxos. Triacilglicerol. Tocoferóis. Fitoesteróis.

1. INTRODUÇÃO

Amêndoa, castanha de caju, noz, pistache, avelã, noz pecan, macadâmia e castanha do Brasil receberam atenção especial de pesquisadores devido à sua combinação única de nutrientes. Estudos confirmaram que a ingestão diária de castanhas associada a uma dieta saudável contribui para a prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes tipo II e câncer (YANG 2009; NISHI *et al.*, 2014; AUNE *et al.*, 2016). Os efeitos benéficos na saúde provavelmente se devem à interação sinérgica dos constituintes bioativos presentes nas castanhas. Elas fornecem grandes quantidades de gorduras monoinsaturadas e poliinsaturadas que ajudam a regular o colesterol sanguíneo e prevenir doenças cardiovasculares (NISHI *et al.*, 2014). Também são ricas em fibras e fitosteróis que contribuem para a redução da absorção do colesterol no intestino (SALAS-SALVADÓ *et al.*, 2006; ROBBINS *et al.*, 2011; SHAHZAD *et al.*, 2017). Ainda, as castanhas contêm tocoferóis (vitamina E), minerais (cálcio, ferro, zinco, potássio e magnésio), minerais antioxidantes (selênio, manganês e cobre) e compostos fenólicos que podem reduzir o estresse oxidativo e a inflamação (NAOZUKA *et al.*, 2011; ROBBINS *et al.*, 2011; COLPO *et al.*, 2014; CARDOSO *et al.*, 2017). Além disso, apresentam baixo teor de sódio e níveis elevados de potássio, o que ajuda a manter uma pressão arterial normal (NDANUKO *et al.*, 2017).

O Brasil, devido ao seu tamanho e à existência de diferentes biomas, possui uma das maiores reservas mundial de espécies de plantas nativas pouco conhecidas e estudadas. Tais plantas podem apresentar significativo potencial nutricional e econômico. A castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess), da família botânica das Lecythidaceae, é uma espécie presente na Amazônia e na Mata Atlântica, principalmente nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia, Piauí, Pernambuco, Maranhão, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (VALLILO *et al.*, 1999; USDA, 2017). Apresenta alto teor de proteínas, ácidos graxos essenciais e minerais (VALLILO *et al.*, 1999; DENADA *et al.*, 2007; NAOZUKA *et al.*, 2011; TEIXEIRA *et al.*, 2018a; TEIXEIRA *et al.*, 2018b). Embora a castanha de sapucaia seja consumida pela população local, suas composições nutricionais e fitoquímicas não são claras e o potencial econômico e sócio-cultural das castanhas não foi explorado. Apenas alguns estudos investigaram a composição nutricional da castanha de sapucaia e seus subprodutos. Além disso, existe um alto potencial extrativista para a castanha de sapucaia, sendo possível aumentar sua exploração.

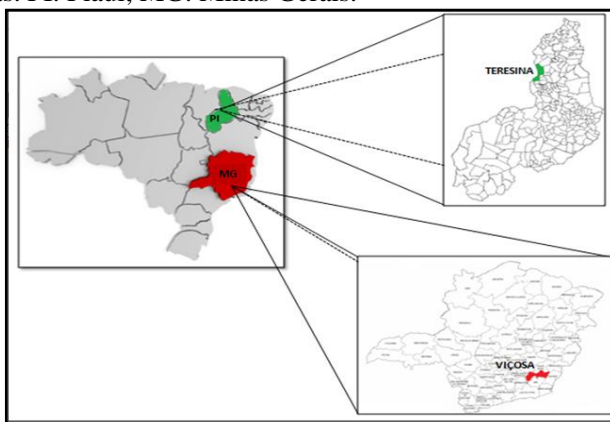
Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição nutricional e fitoquímica da castanha, torta, óleo e casca de sapucaia. Esse conhecimento é fundamental para aumentar sua produção e consumo sustentável pela população. Além disso, o cultivo desta oleaginosa pode ajudar a preservar o ecossistema e o desenvolvimento socioeconômico da população local, além de ser uma fonte promissora para a indústria de alimentos.

2. MATERIAL DE MÉTODOS

2.1. Amostras

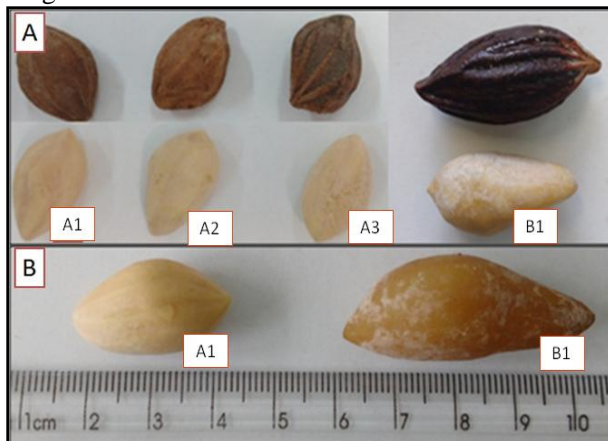
Foram analisadas 3 amostras (A1, A2 e A3) de castanhas de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) provenientes do Município de Teresina, Piauí (Latitude 05°05'21''S e Longitude 42°48'07''W), doadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Meio-Norte) e, 1 amostra (B1) proveniente do Município de Viçosa, Minas Gerais (Latitude 20°45'14''S e Longitude 42°52'53''W), doada pela Universidade Federal de Viçosa (Figura 2.1). Aproximadamente 600 g de cada amostra foram coletadas em outubro de 2016. Na Figura 2.2 ilustra as castanhas de sapucaia provenientes de diferentes regiões.

Figura 2.1: Mapa de estados e municípios onde as amostras foram coletadas. PI: Piauí; MG: Minas Gerais.



Fonte: Próprio Autor.

Figura 2.2: Amostras de castanha de Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess). A) Castanhas provenientes do Piauí (A1, A2 e A3) e de Minas Gerais (B1). B) Diferença de tamanho entre castanhas de diferentes regiões.



Fonte: Próprio Autor.

2.2. Reagentes químicos

Os padrões de ácidos graxos, o padrões dos tocoferóis (α -, β -, γ - e δ -tocoferol), e os padrões de fitoesteróis (β -sitosterol, estigmasterol, campesterol e brassicasterol) foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). O ácido nítrico (65% m/m) foi adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha). Os solventes de grau analítico utilizados nas análises foram adquiridos da Vetec (Xerém, Rio de Janeiro, Brasil) e da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, EUA).

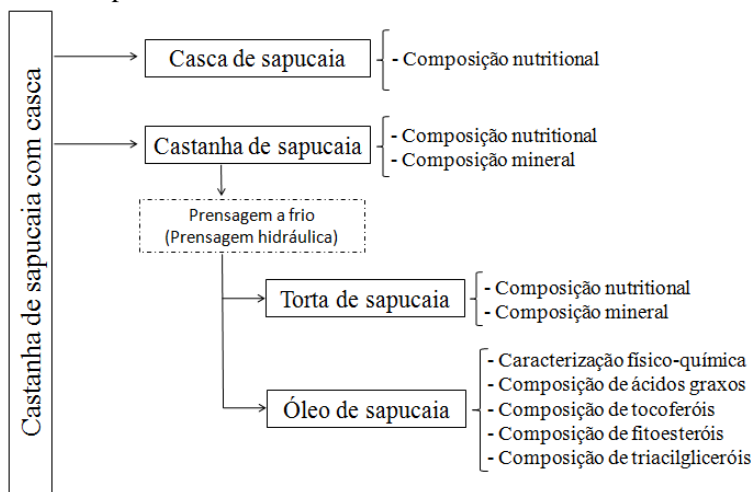
2.3. Obtenção do óleo e torta da castanha de sapucaia

As castanhas de sapucaia com casca foram secas numa estufa de circulação de ar (modelo 400/D 200 °C, marca Nova Ética[®], São Paulo, Brasil) a 40 °C durante 24 h. As cascas da sapucaia foram quebradas manualmente e o óleo da castanha foi obtido por meio de prensagem hidráulica TE-098 Tecnal[®] (São Paulo, Brasil). As amostras foram prensadas 3 vezes, e o óleo centrifugado em centrífuga (modelo 80-2B, marca Daiki[®], Presidente Prudente, Brasil) a 4000 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos (min). As amostras de óleo e a torta resultante da prensagem foram armazenadas em frascos âmbar com

atmosfera de nitrogênio a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análises posteriores. O percentual de rendimento de extração foi calculado de acordo com a equação RE (%) = [(Peso do óleo extraído) / (Peso das castanhas prensadas)] x 100, onde RE (%) = rendimento de extração.

Foi determinada a caracterização físico-química, a composição de ácidos graxos, de tocoferol, de fitosterol e de triacilglicerol do óleo extraído. Também foi determinada composição nutricional e o conteúdo de minerais das castanhas de sapucaia e da torta resultante da prensagem das castanhas para obtenção do óleo. A figura 2.3 mostra um diagrama esquemático das análises realizadas na castanha, torta, óleo e casca de sapucaia.

Figura 2.3: Diagrama das análises realizadas na castanha, torta, óleo de casca de sapucaia.



Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

2.4. Composição nutricional

A composição nutricional da castanha, torta e casca de sapucaia foram realizadas seguindo os métodos recomendados pela AOAC(2005). O teor de umidade (925.09) foi determinado por secagem em estufa das amostras a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ até se atingir um peso constante. O teor de cinzas (923.03) foi determinado por incineração a $550 \pm 15\text{ }^{\circ}\text{C}$. O teor de proteína bruta ($N \times 6,25$) foi determinado pelo método macro-

Kjeldahl (920.87). Os lipídios totais (920.85) foram determinados pelo método de extração de Soxhlet. Fibra alimentar total foi analisada pelo método enzimático-gravimétrico (991.43). Os carboidratos totais foram calculados por diferença de acordo com a equação: Carboidratos ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) = $100 - (\text{g lipídios} + \text{g proteína} + \text{g cinzas} + \text{g fibra})$. O valor energético total (VET) foi calculado de acordo com a equação: VET ($\text{kcal} \cdot 100\text{g}^{-1}$) = $4 \times (\text{g proteína} + \text{g carboidrato}) + 9 (\text{g lipídios})$. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.5. Composição mineral

As condições operacionais para a digestão das amostras foram realizadas de acordo com o método n° 12, descrito no manual do equipamento, o qual é recomendado para a digestão de cereais e grãos (MILESTONE, 1995). Inicialmente 0,1 g da amostra de castanha e torta de sapucaia foram digeridas utilizando um forno de microondas MLS-1200 Milestone (Soriso, Itália), com 6 mL de HNO_3 e 1 mL de H_2O_2 , com a potência aplicada variando de 250 a 600 W por 25 minutos em vasos de poli-tetrafluoretileno (PTFE). As amostras digeridas foram diluídas apropriadamente com água desionizada. O ródio ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) foi utilizado como padrão interno para todas as determinações. A calibração externa foi realizada utilizando soluções aquosas preparadas a partir de uma solução-padrão de multi-elementos contendo todos os analitos. Os elementos selênio, cálcio, magnésio, manganês, zinco, cobre, cromo, níquel, molibdênio, sódio, alumínio, cádmio, estanho e chumbo foram determinados por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) usando um Perkin Elmer SCIEX, modelo NexIon 300D (Shelton, EUA). Os parâmetros operacionais do equipamento ICP-MS foram: amostragem / cones skimmer: platina; RFpower: 1100 W; medição de sinal: contínua; lente auto: ligado; tensão do detector: pulso (1250 v) e analógico (-2290 v); vazão de gás: principal ($15,0 \text{ L min}^{-1}$) e nebulizador ($1,05 \text{ L min}^{-1}$). A Tabela 2.1 ilustra o limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e coeficientes de determinação (R^2) de cada mineral considerado nesta pesquisa.

Tabela 2.1: Limites de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e coeficientes de determinação (R^2) utilizados para cada um dos elementos estudados.

Elementos	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	R^2
Al	0,10	0,30	0,9999
Ca	2,46	7,38	0,9994
Cd	0,01	0,01	0,9999
Cr	0,01	0,04	1,0000
Cu	0,01	0,03	0,9998
Mg	0,01	0,04	0,9999
Mn	1,32	3,98	0,9999
Mo	0,01	0,01	0,9999
Na	0,06	0,17	0,9999
Ni	0,02	0,05	0,9999
Pb	0,01	0,01	0,9999
Se	0,03	0,10	0,9999
Sn	0,71	2,13	0,9999
Zn	0,01	0,04	0,9999

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

2.6. Caracterização físico-química do óleo de castanha de sapucaia

As características físico-químicas do óleo de castanha de sapucaia foram determinadas de acordo com metodologia oficial da AOCS(2004): índice de refração (Cc 7-25); densidade relativa (Cc 10a-25); medição de cor (Cc 13b-45); ponto de fumaça (Cc 9a-48); acidez (Cd 3d-63); peróxido (Cd 8-53); extinção específica (232 e 270 nm) (Ch 5 - 91); valor de *p*-anisidina (Cd 18-90) e índice de estabilidade oxidativa - *Rancimat* (Cd12b-92).

2.7. Composição de ácidos graxos

Os ácidos graxos foram determinados pelo método Ce 1a-13 (AOCS, 2004). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram preparados seguindo o procedimento descrito por Hartman e Lago (1973). As análises foram realizadas utilizando um cromatógrafo a gás 3900 Varian® (Palo Alto, EUA). As condições cromatográficas foram às seguintes: coluna capilar (CP-Sil 88, Chrompack) com 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,2 μm de filme; e um detector de ionização em chama (FID). Condições de funcionamento: divisão de 1:50; temperatura do detector de 310 °C; temperatura do injetor de 270; temperatura do forno de 120 °C/2 min, 120–220 °C (2.2

°C/min) e 220–235 °C (1.5 °C/min), permanecendo 235 °C/15 min; gás auxiliar (*make up* gás): nitrogênio (30 mL/min); gás de arraste: hidrogênio (1 mL/min); volume injetado de 1 µL. Cada sobrenadante foi injetado uma vez no cromatógrafo. A composição qualitativa foi determinada pela comparação dos tempos de retenção dos analitos com os respectivos padrões para ácidos graxos. A composição quantitativa foi determinada pela normalização da área e expressa em porcentagem de massa.

2.8. Composição de tocoferóis

A preparação das amostras e dos padrões foi realizada de acordo com Panfili, Fratianni e Irano (2003). Entre 0,1 e 1,2 g de óleo foram pesados em balão de 10 ml e o volume foi completado com n-hexano. A solução foi homogeneizada num agitador de tubos durante um minuto. O extrato foi filtrado através de um filtro de seringa com tamanho de poro 0,45 µm antes da análise. O teor de tocoferol foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) Shimadzu (Shimadzu®, Kyoto, Japão). As condições de análise utilizadas foram: detector de fluorescência a 294 nm de excitação e 326 nm de comprimento de onda; coluna de sílica Si-60 Merk (125 nm × 4 nm × 5 µm) com temperatura de coluna de 24 °C e vazão de 1,5 mL/min; fase móvel: n-hexano / acetato de etilo / ácido acético (97,3: 1,8: 0,9 v / v / v). A identificação do analito foi realizada comparando os tempos de retenção da amostra com os padrões. Para quantificação analítica, foram utilizadas curvas analíticas de compostos padrão.

2.9. Composição de fitoesteróis

A análise dos fitoesteróis foi realizada de acordo com Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (1993). As amostras foram submetidas à saponificação direta e a matéria insaponificável foi extraída com hexano e analisada por cromatógrafo gasoso 3900 Varian® (Palo Alto, EUA). As condições cromatográficas para a análise foram: injeção automática (1 µL); coluna capilar (Chrompack CP-Sil 88, 100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,20 µm de filme); injeção bipartida (1:50); temperatura do detector a 300 °C; a temperatura do injetor foi de 250; a temperatura da coluna foi inicialmente ajustada a 150 e mantida durante 1 min, em seguida a coluna foi aquecida a 150-300 durante 10 min e mantida a 300 durante 10 min; gás auxiliar (*make*

up gás): nitrogênio (30 mL/min); gás de arraste: hidrogênio (30 mL/min). A identificação dos compostos foi realizada comparando os tempos de retenção dos analitos nas amostras com os tempos de retenção dos padrões.

2.10. Composição de triacilgliceróis

Os triacilgliceróis (TAGs) do óleo de castanha de sapucaia foram determinados pelo método descrito por Segura *et al.* (2011), por cromatografia líquida de alta eficiência (LC), utilizando um cromatógrafo Shimadzu Prominence 20A (Shimadzu[®] Corporação, Kyoto, Japão). Foram dissolvidos 5 mg de óleo em 1 mL de acetona e misturados por agitação. A separação cromatográfica dos compostos foi realizada usando as seguintes condições de HPLC: o volume de injeção foi de 1 µL; detector Shimadzu ELSD-LTII equipado com uma dispersão de luz por evaporação; duas colunas Supelcosil[™] C18 (25 cm × 4,6 mm × 5 µm), conectadas em série e operadas a aproximadamente 20 °C; fase móvel foi acetona / acetonitrila (1:1) com um fluxo de 1 mL/min e um gradiente linear crescente de clorofórmio (20% a 60 min). Esta composição de solvente permaneceu constante durante 20 min, depois voltou a composição inicial e se manteve por 85 min. Os compostos foram identificados usando padrões de TAG puros e considerando a ordem de separação, de acordo com o número equivalente de carbono correspondente (ECN).

2.11. Análise estatística

A distribuição normal e a homocedasticidade dos dados foram avaliadas pelos testes de Brown-Forsythe. A análise de variância (ANOVA) foi realizada e os valores médios foram comparados com o teste de Tukey considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o *software* Statística[®] 13.3 (TIBCO, Palo Alto, CA, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição nutricional da castanha, torta e casca de sapucaia

Na Tabela 2.2 podem ser observados os resultados obtidos para a composição nutricional da castanha, torta e casca da sapucaia.

Tabela 2.2: Composição nutricional (g 100 g⁻¹) da castanha, torta e casca de sapucaia.

Amostras	Componentes (base seca)						
	Umidade (g 100 g ⁻¹)	Cinzas (g 100 g ⁻¹)	Lípidios (g 100 g ⁻¹)	Proteína* (g 100 g ⁻¹)	Fibra alimentar total** (g 100 g ⁻¹)	Carboidrato (g 100 g ⁻¹)	Valor energético total (kcal 100 g ⁻¹)
<i>Castanha</i>							
A1	4,15 ± 0,07 ^b	3,53 ± 0,20 ^a	60,76 ± 0,55 ^a	15,80 ± 0,31 ^b	16,51 ± 0,87 ^b	4,90 ± 0,21 ^b	616,57 ± 6,64 ^a
A2	4,31 ± 0,03 ^b	3,34 ± 0,20 ^a	57,49 ± 0,67 ^b	15,83 ± 0,22 ^b			
A3	4,29 ± 0,09 ^b	3,36 ± 0,01 ^a	59,48 ± 0,62 ^{ab}	16,21 ± 0,47 ^b			
B1	9,15 ± 0,11 ^a	3,34 ± 0,36 ^a	47,99 ± 0,15 ^c	19,49 ± 0,43 ^a	22,63 ± 0,28 ^a	6,50 ± 0,04 ^a	534,13 ± 3,27 ^b
<i>Torta</i>							
A1	7,61 ± 0,14 ^b	5,17 ± 0,34 ^a	32,41 ± 2,48 ^{ab}	26,78 ± 1,00 ^b	31,23 ± 0,11 ^a	5,11 ± 0,13 ^a	414,31 ± 1,74 ^b
A2	6,39 ± 0,10 ^c	5,02 ± 0,12 ^a	31,98 ± 0,96 ^{ab}	26,54 ± 0,03 ^b			
A3	6,68 ± 0,07 ^c	5,07 ± 0,09 ^a	31,36 ± 0,25 ^b	26,70 ± 0,26 ^b			
B1	10,89 ± 0,10 ^a	3,35 ± 0,27 ^b	37,01 ± 0,47 ^a	29,67 ± 0,20 ^a	27,99 ± 0,36 ^b	1,98 ± 0,04 ^b	460,43 ± 3,55 ^a
<i>Casca</i>							
A1	10,98 ± 0,07 ^b	3,36 ± 0,01 ^a	0,46 ± 0,01 ^b	3,62 ± 0,17 ^a	75,22 ± 1,86 ^a	17,25 ± 1,90 ^a	88,49 ± 7,49 ^a
A2	10,31 ± 0,02 ^b	3,29 ± 0,01 ^a	0,41 ± 0,05 ^b	3,82 ± 0,01 ^a			
A3	10,86 ± 0,03 ^b	3,17 ± 0,07 ^a	0,61 ± 0,05 ^a	3,88 ± 0,08 ^a			
B1	13,44 ± 0,06 ^a	2,73 ± 0,10 ^b	0,63 ± 0,01 ^a	3,99 ± 0,07 ^a	80,89 ± 1,00 ^a	11,75 ± 0,83 ^b	68,64 ± 3,61 ^a

A1, A2, A3: amostras do Piauí; B1: amostras de Minas Gerais. Média ± DP (n = 3). Diferentes letras na mesma coluna representam diferença significativa entre as amostras (Teste de Tukey, p < 0,05). * Fator de conversão do nitrogênio = 6,25. **As análises de fibra alimentar das amostras do Piauí foram feitas com um mix de amostras.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

As castanhas de sapucaia possuem alto teor de lipídios (47,97 a 60,76 g 100 g⁻¹) e proteínas (15,80 a 19,49 g 100 g⁻¹), o que contribui para um alto valor energético (534,13 a 615,74 kcal 100 g⁻¹). Os resultados indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras das diferentes regiões, sendo que na amostra proveniente de Minas Gerais (B1) o teor de proteína foi maior e o teor de lipídios menor, quando comparado com as amostras provenientes do Piauí (A1, A2 e A3). As castanhas também são ricas em fibra alimentar e compostos inorgânicos. Vallilo *et al.* (1999), Denadai *et al.* (2007) e Carvalho *et al.* (2008) relataram resultados semelhantes para conteúdo lipídico, proteína e cinzas para castanhas de sapucaia. O teor de fibra alimentar nas amostras deste estudo foi superior ao relatado por Denadai *et al.* (2007) e Carvalho *et al.* (2008) (5,67 e 7,0 g 100 g⁻¹, respectivamente). O alto teor de fibra alimentar nas castanhas pode contribuir para vários benefícios à saúde, como a redução do colesterol sanguíneo e da resposta glicêmica pós-prandial. Além disso, o consumo de fibras alimentares tem sido associado a uma redução no risco de desenvolver doenças coronarianas e diabetes (SALAS-SALVADÓ *et al.*, 2006).

A torta, obtida a partir do processo de prensagem das castanhas de sapucaia, apresentaram grande quantidade de lipídios, o que está relacionado ao baixo rendimento de óleo (51%, 45% 54% e 30% para as amostras A1, A2, A3 e B1, respectivamente). Costa; Jorge (2012), utilizando o mesmo processo de extração, reportaram rendimentos médios de óleo de 59% para a castanha de sapucaia. Rabadán *et al.* (2017) relataram baixo rendimento para o óleo de pistache obtido pela prensa hidráulica 24,5%. O maior teor de lipídios na torta obtido da amostra B1 pode ser devido ao maior teor de umidade da castanha, uma vez que a eficiência de extração é afetada pela temperatura e umidade da amostra (RABADÁN *et al.*, 2017). Os teores de umidade, cinza, proteína e fibra alimentar da torta de sapucaia foram superiores aos obtidos a partir da castanha, pois a separação do óleo concentra os demais componentes nutricionais na torta residual. O teor de proteína foi significativamente maior ($p < 0,05$) para a amostra B1 quando comparado às amostras A1, A2 e A3. Por outro lado, o conteúdo de cinzas, fibra alimentar e carboidratos da amostra B1 foram significativamente menores ($p < 0,05$).

Fibra alimentar representou a maior fração da composição da casca da sapucaia (entre 75,22 e 80,89 g 100 g⁻¹), seguida pelos carboidratos (11,75-17,11 g 100 g⁻¹) e proteínas (3,62-3,99 g 100 g⁻¹). As cinzas foram significativamente maiores ($p < 0,05$) para as amostras A1, A2 e A3 quando comparadas com a amostra B1. O conteúdo

lipídico representou a menor fração na casca da sapucaia e foi significativamente maior ($p < 0,05$) para as amostras A3 e B1.

As diferenças significativas observadas na composição nutricional das castanhas, torta e cascas de sapucaia obtidas de diferentes regiões podem estar relacionadas a fatores ambientais, composição do solo, localização geográfica, período de colheita e fatores genéticos (YADA; HUANG; LAPSLEY, 2013).

3.2. Composição mineral da castanha e torta de sapucaia

A Tabela 2.3 mostra os 13 elementos minerais encontrados na castanha e torta de sapucaia. A concentração de selênio (Se) na castanha variou entre 26,4 e 46,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ e entre 28,7 e 48,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ na torta. Os resultados indicam que a ingestão de uma única castanha de sapucaia (2 g) pode ser suficiente para atingir a dose diária recomendada de selênio (55 $\mu\text{g}/\text{dia}$), não excedendo o Nível de Ingestão Superior Tolerável (UL) (FAO/WHO, 2001; FOOD; NUTRITION BOARD, 2004). A Tabela 2.4 mostra as Recomendações Nutricionais - *Recommended Dietary Allowance* (RDA) de minerais para adultos (19–50 anos). O selênio, como constituinte das selenoproteínas, é um micronutriente essencial que desempenha um papel importante em numerosas funções fisiológicas, como a conversão do pró-hormônio tiroxina (T4) para o hormônio tireoidiano ativo triiodotironina (T3), e também a conversão do T3 reverso inativo em diiodotironina. A atividade antioxidante do Se também está relacionada à prevenção de doenças como câncer e doenças cardiovasculares (KUMAR; PRIYADARSINI, 2014). O selênio tem a capacidade de aumentar a excreção de mercúrio (Hg) e eliminar espécies reativas de oxigênio induzidas por Hg, indicando uma ação protetora contra o Hg (SAKAMOTO *et al.*, 2013). Uma ingestão diária de selênio $< 40 \mu\text{g}$ é considerada deficiente. A deficiência de selênio pode levar à doença de *Keshan* (uma cardiomiopatia endêmica com insuficiência miocárdica), câncer e doenças cardiovasculares (ROMAN; JITARU; BARBANTE, 2014). Por outro lado, uma ingestão de $> 400 \mu\text{g}/\text{dia}$ de Se tem sido associada a efeitos tóxicos, incluindo a selenose, cujos sintomas são perda de cabelo e unhas, lesões na pele e distúrbios do sistema nervoso (ROMAN *et al.*, 2014). Considerando o nível de Se detectado em uma única castanha de sapucaia, uma ingestão diária excedendo 8-10 castanhas pode, portanto, exceder o limite de toxicidade para o Se.

Tabela 2.3: Composição de minerais ($\mu\text{g g}^{-1}$) na castanha e torta de sapucaia.

Amostras	Elementos ($\mu\text{g g}^{-1}$)													
	Se	Ca	Mg	Mn	Zn	Cu	Cr	Ni	Na	Mo	Al	Cd	Pb	Sn
<i>Castanha</i>														
A1	34,8 ± 6,19 ^{ab}	1249 ±2,39 ^a	1682± 1,76 ^b	38,3 ± 2,31 ^a	11,8 ± 1,03 ^b	11,6 ± 2,45 ^{bc}	0,41 ± 0,061 ^{ab}	0,85 ± 0,265 ^b	5,34 ± 0,54 ^a	Nd	4,56 ± 0,665 ^a	0,35 ± 0,024 ^a	0,51 ± 0,049 ^a	7,48 ± 1,21 ^c
A2	46,9 ± 3,87 ^a	1168± 4,20 ^b	1572± 4,38 ^c	41,4 ± 1,87 ^a	20,9 ± 2,26 ^a	16,9 ± 0,632 ^a	0,45 ± 0,013 ^a	0,48 ± 0,043 ^b	2,22 ± 0,307 ^b	Nd	1,65 ± 0,254 ^b	0,33 ± 0,005 ^a	0,45 ± 0,010 ^a	11,09 ± 0,031 ^{bc}
A3	44,9 ± 2,24 ^a	1057± 2,77 ^c	1740± 4,81 ^a	22,9 ± 5,75 ^b	17,3 ± 3,19 ^{ab}	15,4 ± 0,461 ^{ab}	0,30 ± 0,004 ^b	0,74 ± 0,006 ^b	3,85 ± 0,412 ^{ab}	Nd	2,87 ± 0,457 ^{ab}	0,36 ± 0,014 ^a	0,46 ± 0,018 ^a	14,6 ± 0,846 ^{ab}
B1	26,4 ± 0,777 ^b	1063 ±5,18 ^c	1138 ±0,073 ^d	30,6 ± 0,507 ^{ab}	10,2 ± 0,221 ^b	7,00 ± 0,169 ^c	0,30 ± 0,007 ^b	3,85 ± 0,018 ^a	2,39 ± 0,738 ^b	Nd	2,63 ± 0,189 ^b	0,31 ±0,008 ^a	0,45 ±0,013 ^a	17,5 ± 1,26 ^a
<i>Torta</i>														
A1	42,9 ± 1,04 ^a	2473± 4,02 ^a	2872± 2,19 ^b	56,5 ± 1,21 ^a	30,2 ± 3,78 ^a	26,9 ± 5,66 ^a	0,47 ± 0,004 ^a	2,44 ± 0,291 ^b	9,67 ± 0,345 ^a	Nd	5,22 ± 0,218 ^a	0,35 ± 0,028 ^a	0,52 ± 0,076 ^a	14,5 ± 2,25 ^a
A2	48,5 ± 1,79 ^a	1852± 7,20 ^b	2673± 4,47 ^c	57,2 ± 2,65 ^a	35,7 ± 1,11 ^a	30,5 ± 3,94 ^a	0,47 ± 0,028 ^a	1,16 ± 0,097 ^b	3,93 ± 1,01 ^b	Nd	4,79 ± 0,008 ^a	0,34 ± 0,010 ^a	0,57 ± 0,095 ^a	13,5 ± 1,85 ^a
A3	46,1 ± 3,90 ^a	1742± 5,91 ^c	3555 ±5,65 ^a	59,3 ± 5,46 ^a	32,6 ± 1,25 ^a	23,9 ± 3,17 ^{ab}	0,44 ± 0,085 ^a	1,66 ± 0,029 ^b	8,21 ± 0,095 ^{ab}	Nd	6,12 ± 0,916 ^a	0,36 ± 0,002 ^a	0,60 ± 0,071 ^a	19,1 ± 0,898 ^a
B1	28,7 ± 3,21 ^b	1583± 5,46 ^d	1872 ±2,49 ^d	42,8 ± 7,61 ^a	14,9 ± 1,54 ^b	10,3 ± 1,51 ^b	0,40 ± 0,037 ^a	5,58 ± 0,971 ^a	8,87 ± 2,29 ^{ab}	Nd	5,09 ± 0,349 ^a	0,36 ± 0,001 ^a	0,60 ± 0,021 ^a	18,1 ± 1,29 ^a

A1, A2, A3: amostras do Piauí; B1: amostras de Minas Gerais. Média ± DP (n = 3). Diferentes letras na mesma coluna representam diferença significativa (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Nd: não detectado.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

Tabela 2.4: Ingestão Dietética Recomendada (Recommended Dietary Allowance/RDA) de minerais para adultos (homens e mulheres, 19-50 anos) da ingestão de 2 g de castanha e torta de sapucaia.

Mineral	DRIs*		Castanha de sapucaia		Torta de sapucaia	
	RDA**	UL***	Homens(%)	Mulheres (%)	Homens(%)	Mulheres (%)
Ca	1000 mg/d	2500 mg/d	0,23	0,23	0,38	0,38
Mg	260 mg/d [#] 220 mg/d ^{##}	350 mg/d	1,2	1,4	2,1	2,5
Se	55 µg/d	400 µg/d	139	139	151	151
Mn	2,3 mg/d [#] 1,8 mg/d ^{##}	11 mg/d	2,9	3,7	4,7	6,0
Zn	8 mg/d	40 mg/d	0,38	0,38	0,71	0,71
Cu	900 µg/d	10000 µg/d	2,8	2,8	5,1	5,1
Cr	35 µg/d [#] 25 µg/d ^{##}	-	2,1	2,9	2,5	3,6
Ni	-	1 mg/d	0,29	0,29	0,54	0,54
Na	1,5 g/d	2,3 g/d	0,0002	0,0002	0,0005	0,0005

*DRIs: Ingestão Dietética de Referência (Dietary Reference Intakes) recomendados para adulto (homens e mulheres, 19 – 50 anos) (FAO/WHO, 2001; Food & Nutrition Board, 2004). **RDA: Recomendações nutricionais (Recommended Dietary Allowance). ***UL: Limite Superior Tolerável de Ingestão (Tolerable Upper Intake Level). #: Homens. ##: Mulheres.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

Lemire *et al.* (2010) relataram um teor de Se na castanha de sapucaia entre 5,01 e 14,36 $\mu\text{g g}^{-1}$. A castanha do Brasil é considerada o alimento com maior teor de Se, podendo variar entre 0,2 e 512 mg kg^{-1} , dependendo da região (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2017).

As castanhas de sapucaia também são ricas em cálcio (Ca) e magnésio (Mg), sendo minerais essenciais para a saúde humana. O cálcio é um mineral presente em grandes quantidades no corpo humano (contém entre 1000 e 1200 g) e a grande maioria (99%) está localizada no osso. Os efeitos protetores de cálcio estão relacionados à saúde óssea e contra a osteoporose (FARDELLONE, 2015). Por outro lado, o Mg está relacionado com a ativação de mais de 300 sistemas enzimáticos. A ingestão de Mg tem diminuído nos últimos anos, provavelmente devido ao aumento do consumo de alimentos industrializados, altamente calórico e pobre em micronutrientes (FARDELLONE, 2015). Denadai *et al.* (2007), Carvalho *et al.* (2012) e Naozuka *et al.* (2011) reportaram maiores quantidades de Ca e Mg em amostras de castanhas de sapucaia de diferentes regiões do Brasil (1720 e 2790 $\mu\text{g g}^{-1}$; 1821 e 3434 $\mu\text{g g}^{-1}$; e 1798 e 3151 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) quando comparados aos resultados deste estudo. No entanto, quantidades menores para Ca (880 $\mu\text{g g}^{-1}$) e quantidades similares para Mg (1465 $\mu\text{g g}^{-1}$) foram relatadas por Vallilo *et al.* (1999) em castanha de sapucaia.

Manganês (Mn), zinco (Zn) e cobre (Cu) são metais necessários em quantidades mínimas para um grande número de funções fisiológicas. O Mn é um co-fator para muitas enzimas, incluindo hidrolases, liases, superóxido dismutase (SOD) e glutamina sintetase (PARMALEE; ASCHNER, 2016). O Zn desempenha papel importante no funcionamento normal do sistema imunológico e atua como sinalização iônica em grande número de células (WANI *et al.*, 2017). O Cu é um co-fator essencial e um componente estrutural de várias enzimas importantes envolvidas em reações redox (SCHEIBER; MERCER; DRINGEN, 2014). Denadai *et al.* (2007) e Carvalho *et al.* (2012) relataram valores mais altos para o Mn (80,69 $\mu\text{g g}^{-1}$, 48 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente), Zn (40,37 $\mu\text{g g}^{-1}$, 44 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) e Cu (32,76 $\mu\text{g g}^{-1}$, 23 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) quando comparados com os resultados deste estudo. Naozuka *et al.* (2011) também encontraram valores mais altos para Mn (64,3 $\mu\text{g g}^{-1}$) e Zn (39,3 $\mu\text{g g}^{-1}$), mas relataram valores menores para Cu (9,2 $\mu\text{g g}^{-1}$).

O cromo (Cr) e níquel (Ni) são elementos com numerosas ações benéficas, como a redução do risco de osteoporose e diabetes, bom funcionamento do sistema nervoso central e para o desenvolvimento ósseo (NIELSEN, 2014). A recomendação nutricional estabelecida para

Cr é de 35 μg e de 25 μg por dia para homens e mulheres, respectivamente; e para Ni é 1 mg/dia (FAO/WHO, 2001; FOOD; NUTRITION BOARD, 2004). Carvalho *et al.* (2012) relataram valores mais elevados de Ni (5 $\mu\text{g g}^{-1}$) em castanha de sapucaia quando comparados ao presente estudo, e os níveis de Cr não foram detectados. A concentração de sódio (Na) nas amostras de sapucaia e na torta foi baixa (média de 3,35 e 7,67 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) considerando que os órgãos internacionais de nutrição recomendam uma ingestão de Na de 1,5 g/dia. Denadai *et al.* (2007) também detectaram baixos níveis de Na (5,8 $\mu\text{g g}^{-1}$) em amostras de sapucaia.

Elementos tóxicos e não essenciais como alumínio (Al), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e estanho (Sn) também foram identificados na castanha e na torta de sapucaia. O limite máximo de Al é 1mg kg^{-1} de peso/dia (ATSDR, 2017). Para Cd e Pb, o nível máximo recomendado é de 0,05mg kg^{-1} /dia e de 0,2mg kg^{-1} , respectivamente (CODEXALIMENTARIUS, 1996). Não há limite recomendado para a ingestão de Sn. Neste estudo, nenhuma das amostras excedeu os valores considerados tóxicos pela Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças e pela Comissão do Codex Alimentarius. Os metais pesados em alimentos derivam de várias fontes, como o solo poluído por metais pesados (onde podem permanecer por períodos mais longos devido à sua maior afinidade com matéria orgânica), pesticidas e fertilizantes (ZANG *et al.*, 2017).

3.3. Caracterização físico-química do óleo de sapucaia

A Tabela 2.5 mostra algumas características de identidade e qualidade do óleo de castanha de sapucaia. O índice de refração (entre 1,469 e 1,470 a 20 °C) indicou que os óleos são ricos em ácidos graxos insaturados. A densidade a 20 °C variou entre 0,88 e 0,92 g/cm^3 e a cor Lovibond (30,0 a 40,0 para unidades amarelas e 0,8 a 1,0 para unidades vermelhas) indicou coloração amarela para o óleo. O índice de acidez e peróxido estão de acordo com valores determinados pela ANVISA para óleos vegetais prensados a frio e não refinados, que estabelece valores máximos de 4,0 mg KOH. g^{-1} (ou 2,01 g oléico.100g $^{-1}$) e de 15 mEq.kg $^{-1}$ para índice de acidez e peróxido, respectivamente (BRASIL, 2005). O valor de peróxido e a extinção específica (232 e 270 nm) indicaram adequada qualidade oxidativa para o óleo. O Índice de Estabilidade Oxidativa (OSI) apresentou valores entre 8,57 e 12,95 h, o que reflete sua composição de ácidos graxos e a presença de compostos antioxidantes no óleo. O OSI foi significativamente ($p < 0,05$) maior

para as amostras A1, A2 e A3 quando comparado com a amostra B1, devido ao alto teor de ácido oléico. Costa; Jorge (2012) encontraram uma maior estabilidade oxidativa (24,89 h) do óleo de sapucaia extraído por prensagem a frio a 100 °C. Teixeira *et al.* (2018a) relatou um OSI de 7,18 h do óleo de castanha de sapucaia extraído por Soxhlet, e 13 h para o óleo de sapucaia extraído por Bligh & Dyer. Teixeira *et al.* (2018)relataram um OSI de 9,29 h (110 °C) do óleo de castanha de sapucaia extraído com CO₂ supercrítico. Os resultados obtidos neste trabalho do período de indução foram semelhantes aos reportados para óleos de: castanha do Brasil (8,24 h), canola (8,63 h), avelã (8,88 h), noz pecan (9,87), milho (9,96 h) e soja (12,0 h) (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2016). Embora não exista valor mínimo estabelecido para o período de indução para óleos vegetais, sabe-se que quanto maior o período de indução, maior a estabilidade oxidativa do óleo.

Tabela 2.5: Características físico-químicas do óleo de castanha de sapucaia.

Determinações	Amostras			
	A1	A2	A3	B1
Índice de refração (20 °C)	1,469 ± 0,001 ^a	1,469 ± 0,001 ^a	1,469 ± 0,001 ^a	1,470 ± 0,001 ^a
Densidade (g/cm ³)	0,91 ± 0,003 ^a	0,91 ± 0,001 ^a	0,92 ± 0,006 ^a	0,88 ± 0,002 ^a
Ponto de fumaça (°C)	209,0 ± 2,83 ^b	210,5 ± 0,70 ^b	210,0 ± 2,83 ^b	217,5 ± 1,77 ^a
Acidez (g ácido oleico 100 g ⁻¹)	0,19 ± 0,02 ^b	0,19 ± 0,01 ^b	0,20 ± 0,01 ^b	0,34 ± 0,02 ^a
Peróxido (mEq,Kg ⁻¹)	1,47 ± 0,11 ^b	1,53 ± 0,44 ^b	1,60 ± 0,02 ^b	2,52 ± 0,12 ^a
Extinção específica – 232 nm (%)	0,74 ± 0,02 ^b	0,78 ± 0,02 ^b	0,73 ± 0,02 ^b	1,46 ± 0,02 ^a
Extinção específica – 270 nm (%)	0,03 ± 0,01 ^b	0,07 ± 0,02 ^b	0,02 ± 0,01 ^b	0,39 ± 0,01 ^a
<i>p</i> -anisidina	Nd	Nd	Nd	Nd
Estabilidade Oxidativa – OSI (h)	12,95 ± 0,06 ^a	12,88 ± 0,07 ^a	12,75 ± 0,22 ^a	8,57 ± 0,23 ^b
Cor Lovibond (5 ¼)*	30,0 A / 1,0 V	40,0 A/ 1,0 V	30,0 A /1,0 V	40,0 A /0,8 V

A1, A2, A3: amostras do Piauí. B1: amostras de Minas Gerais. Média ± DP (n = 3). Diferentes letras na mesma linha representam diferença significativa (Teste de tukey, p < 0,05). *A = amarelo. V = vermelho. Nd = não detectado.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

3.4. Composição de ácidos graxos, tocoferóis e fitoesteróis em óleo de sapucaia

Na Tabela 2.6 pode ser observada o perfil de ácidos graxos para o óleo de castanha de sapucaia.

Tabela 2.6: Composição de ácidos graxos, tocoferóis e fitoesteróis no óleo de castanha de sapucaia.

Determinações	Amostras			
	A1	A2	A3	B1
Ácidos graxos (%)				
Mirístico (C 14:0)	0,10	0,09	0,09	0,07
Palmitico (C 16:0)	15,2	12,9	14,4	11,1
Palmitoléico (C 16:1)	0,35	0,21	0,21	0,24
Margárico (C 17:0)	0,08	0,08	0,07	0,07
Estearico (C 18:0)	7,93	8,44	7,91	7,50
Oléico (C18:1 n9c)	39,7	45,4	44,4	40,0
Linoléico (C 18:2 n6c)	40,0	32,3	32,2	46,6
γ -linolênico (C 18:3)	0,27	0,26	0,27	0,22
α -Linolênico (C 18:3 n3c)	0,35	0,26	0,32	0,22
<i>Cis</i> -11- eicosanóico (C 20:1)	0,07	0,07	0,08	0,06
Saturado	23,3	21,5	22,5	18,8
Monoinsaturado	40,1	45,7	44,7	34,2
Poli-insaturado	36,6	32,8	32,7	47,0
S/I*	0,30	0,27	0,29	0,23
Tocoferóis (mg 100 g⁻¹)				
α -Tocoferol	1,12 ± 0,03 ^b	0,75 ± 0,09 ^b	1,10 ± 0,01 ^b	2,24 ± 0,16 ^a
β -Tocoferol	Nd < 0,02*	Nd < 0,02*	Nd < 0,02*	Nd < 0,02*
γ -Tocoferol	28,5 ± 0,49 ^a	21,2 ± 0,13 ^b	26,8 ± 0,83 ^a	19,2 ± 0,17 ^b
δ -Tocopherol	0,28 ± 0,02 ^b	0,26 ± 0,02 ^b	0,41 ± 0,01 ^a	0,43 ± 0,02 ^a
Tocoferol Total	29,9 ± 0,54 ^a	22,2 ± 0,24 ^b	28,3 ± 0,85 ^a	21,8 ± 0,32 ^b
Vitamina E (UI 100 g ⁻¹)	6	4	5	5
Fitoesteróis (mg 100 g⁻¹)				
β -sitosterol	93,7 ± 0,78 ^c	101,3 ± 1,34 ^b	92,8 ± 1,49 ^c	193,9 ± 1,84 ^a
Estigmasterol	11,2 ± 0,19 ^b	11,8 ± 0,36 ^b	9,92 ± 0,42 ^c	13,2 ± 0,09 ^a
Campesterol	8,60 ± 0,49 ^{bc}	9,11 ± 0,32 ^{ab}	8,42 ± 0,28 ^{bc}	9,63 ± 0,26 ^a
Brassicasterol	Nd < 1,50	Nd < 1,50	Nd < 1,50	Nd < 1,50

A1, A2, A3: amostras do Piauí. B1: amostra de Minas Gerais. Ácidos Graxos (n = 1). Média ± DP (n = 3). Diferentes letras na mesma linha representam diferença significativa (Teste de Tukey, p < 0,05). Nd = não detectado. *S/I: Saturado/Insaturado.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

Foram identificados dez diferentes ácidos graxos no óleo de castanha de sapucaia. Entre os ácidos graxos insaturados, o ácido oléico foi predominante nas amostras A1, A2 e A3 (39,7 a 45,4%), e o ácido linoléico na amostra B1 (46,6%). Entre os ácidos graxos saturados, os ácidos palmíticos e esteáricos foram os principais ácidos graxos (11,1-15,2% e 7,50-8,44%, respectivamente). O óleo de castanha de sapucaia é fonte de ácidos graxos insaturados, pois continha uma proporção insaturada entre 0,27 e 0,30%. A composição de ácidos graxos do óleo de castanha de sapucaia obtida para as amostras do Piauí foi semelhante aos resultados relatados por Vallilo *et al.* (1999) e Costa; Jorge (2012) em óleo de sapucaia. Resultados semelhantes obtidos para amostras de Minas Gerais foram relatados por Teixeira *et al.* (2018a) e Teixeira *et al.* (2018b) que encontraram o ácido oléico como componente principal no óleo de castanha de sapucaia, seguido pelos ácidos linoléico e palmítico. Estudos comprovam que a substituição da gordura saturada da dieta por ácido oléico e/ou ácidos graxos poliinsaturados pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares, principalmente pela redução dos níveis de colesterol sanguíneo (NISHI *et al.*, 2014).

O teor de tocoferóis totais nas amostras de óleo de sapucaia variaram de 21,8 a 29,9 mg 100g⁻¹. O γ -tocoferol foi o principal tocoferol identificado no óleo de sapucaia, representando de 88 a 95% do conteúdo total desses compostos. Baixas concentrações de α - e δ -tocoferóis também foram identificados. Efeitos anticancerígenos e antiinflamatórios foram relatados para o γ -tocoferol (JIANG, 2014).

O β -sitosterol (92,8-193,9 mg 100 g⁻¹) foi o principal fitoesterol identificado no óleo de sapucaia, seguido do estigmasterol (9,92 e 13,2 mg 100 g⁻¹) e campesterol (8,42 e 9,63 mg 100 g⁻¹). O conteúdo de estigmasterol e campesterol foi significativamente maior ($p < 0,05$) na amostra B1. O β -sitosterol é um agente de redução do colesterol bem reconhecido (DESAI; DONG; MILLER, 2016). Atividades anticâncer, anti-inflamatória e proteção contra doenças cardiovasculares também foram relatadas para o β -sitosterol (DESAI *et al.*, 2016; SHAHZAD *et al.*, 2017). O β -sitosterol individual ou em combinação com outros fitoesteróis (na forma livre ou esterificada) é usado em uma variedade de alimentos comerciais enriquecidos, como iogurte, leite e suco de frutas.

Os compostos químicos identificados no óleo de castanha de sapucaia, como os tocoferóis, os fitoesteróis e os ácidos graxos oléico e linoléico, que quando presentes na dieta, podem contribuir para a manutenção de uma vida saudável. Estudos associaram uma dieta rica em nozes e castanhas a uma redução da incidência de doenças

coronarianas, hipertensão arterial, colesterol, câncer, e doenças inflamatórias. Os efeitos relatados podem estar associados a uma interação sinérgica dos muitos constituintes bioativos das castanhas (tocoferóis, fitoesteróis, ácidos oléico e linoléico) que podem influenciar favoravelmente na saúde humana (AUNE *et al.*, 2016; CARDOSO *et al.*, 2017; NISHI *et al.*, 2014; YANG, 2009).

3.5. Perfil de triacilglicerídeos (TAGs) no óleo de sapucaia

Os TAGs predominantemente presentes no óleo de sapucaia são LLO, PLO, LOO, POO, OOO, PLL e LLL (Tabela 2.7). Os TAGs encontrados no óleo de castanha de sapucaia continham predominantemente ácidos oléico e linoléico e menos ácidos palmítico e esteárico, o que é compatível com o perfil de ácidos graxos encontrado nas amostras. A composição TAG do óleo de castanha de sapucaia obtida neste estudo é semelhante aos resultados relatados por Teixeira *et al.* (2018b).

Tabela 2.7: Composição de triacilglicerídeos (TAGs) no óleo de sapucaia.

Estrutura dos TAGs (%)	dos ECN	Amostras			
		A1	A2	A3	B1
LLL	42	6,40 ± 0,35 ^b	5,91 ± 0,01 ^b	6,00 ± 0,15 ^b	12,6 ± 0,20 ^a
LLO	44	12,9 ± 0,43 ^b	12,9 ± 0,68 ^b	11,6 ± 0,03 ^b	20,7 ± 0,14 ^a
PLL	44	6,92 ± 0,32 ^b	6,41 ± 0,04 ^b	6,42 ± 0,18 ^b	10,0 ± 0,04 ^a
LOO	46	14,1 ± 0,11 ^a	14,9 ± 0,98 ^a	14,7 ± 0,44 ^a	14,1 ± 0,05 ^a
PLO	46	16,5 ± 0,19 ^a	16,4 ± 0,50 ^a	16,6 ± 0,41 ^a	16,8 ± 0,05 ^a
PPL	46	2,51 ± 0,34 ^a	1,33 ± 0,26 ^b	1,92 ± 0,21 ^{ab}	1,73 ± 0,03 ^{ab}
OOO	48	11,93 ± 0,59 ^a	12,5 ± 0,38 ^a	13,3 ± 0,48 ^a	6,85 ± 0,13 ^b
POO	48	15,6 ± 0,48 ^b	16,7 ± 0,47 ^{ab}	17,4 ± 0,39 ^a	10,9 ± 0,21 ^c
PPO	48	2,43 ± 0,10 ^{ab}	1,52 ± 0,18 ^{ab}	1,52 ± 0,01 ^b	2,52 ± 0,46 ^a
PPP	48	1,91 ± 0,08 ^a	1,81 ± 0,41 ^a	1,91 ± 0,24 ^a	0,60 ± 0,01 ^b
SOO	50	4,95 ± 0,21 ^a	5,69 ± 0,41 ^a	5,92 ± 0,36 ^a	2,51 ± 0,03 ^b
SSL	50	2,74 ± 0,05 ^a	2,91 ± 0,44 ^a	2,50 ± 0,41 ^a	0,92 ± 0,01 ^b
SOS	52	0,64 ± 0,02 ^{ab}	1,00 ± 0,22 ^a	0,70 ± 0,16 ^{ab}	0,31 ± 0,01 ^b

A1, A2, A3: amostras do Piauí. B1: amostra de Minas Gerais. Média ± DP (n = 3). Diferentes letras na mesma linha representam diferença significativa (Teste de Tukey, p < 0,05). O: ácido oléico. L: ácido linoléico. P: ácido palmítico. S: ácido esteárico. ECN = número equivalente de carbonos.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

3.6. Composição nutricional e perfil lipídico da castanha de sapucaia em comparação com castanha do Brasil, caju, baru e chichá.

Castanha do Brasil, caju, baru e chichá são castanhas produzidas no Brasil que apresentam alto teor de compostos bioativos. A castanha de sapucaia, apesar de seu significativo potencial nutricional, ainda é uma fonte alimentar subutilizada. A Tabela 2.8 mostra que a castanha de sapucaia apresenta menor teor de lipídios do que castanha do Brasil e maior que a castanha de caju, baru e chichá. Por outro lado, o teor de proteína é semelhante entre todas as castanhas. A castanha de sapucaia apresenta alto teor de fibra alimentar, semelhante a castanha de chichá e, ainda, superior ao relatado na literatura para castanha do Brasil, caju e baru.

Castanha de sapucaia e do Brasil são ricas em selênio. Na castanha de sapucaia, o teor de Ca é superior ao da castanha de caju e chichá, no entanto, inferior ao da castanha do Brasil e baru. Os teores de Mg e Zn na castanha de sapucaia é menor quando comparada as demais castanhas. Por outro lado, o conteúdo de Mn é maior na castanha de sapucaia quando comparado a do Brasil, caju e chichá.

A concentração de ácidos graxos saturados da castanha de sapucaia é semelhante à castanha de caju e baru e menor que a castanha do Brasil e chichá. O teor de ácidos graxos monoinsaturados é semelhante entre as castanhas. Ainda, o teor de ácidos graxos poli-insaturados da castanha de sapucaia é maior quando comparada a castanha de caju, baru e chichá. A castanha de sapucaia apresenta maior teor de γ -tocoferol quando comparada às demais castanhas.

Estes resultados mostram que a castanha de sapucaia apresenta potenciais benefícios para a saúde e pode ser usada para melhorar a dieta da população brasileira. Sua composição nutricional e fitoquímica são comparáveis e, em alguns casos, melhor do que outras castanhas nativas brasileiras, como castanha do Brasil, caju e baru.

Tabela 2.8: Variação da composição nutricional da castanha de sapucaia em comparação às castanhas: Brasil, caju, baru e chichá.

Parâmetros	Castanha de sapucaia*	Castanha do Brasil	Castanha de caju	Castanha de baru	Castanha de chichá
Valor energético total (kcal 100 g ⁻¹)	534 – 617	643 – 710,6 ^{AB}	570 – 600,23 ^{AC}	502 ^G	456 ^I
Proteína (g 100 g ⁻¹)	15,8 – 19,5	14,5 – 18,58 ^{AB}	18,5 – 22,67 ^{AC}	23,9 ^G	18,5-22,34 ^{H^I}
Carboidrato(g 100 g ⁻¹)	4,90 – 6,50	7,60 – 15,1 ^{AB}	19,86 – 29,1 ^{AC}	15,8 ^G	40,5 ^I
Fibra alimentar(g 100 g ⁻¹)	16,5 – 22,6	7,9 ^A	3,7 – 3,92 ^{AC}	13,4 ^G	5,8-26,28 ^{H^I}
Lipídios totais (g 100 g ⁻¹)	47,9 – 60,8	63,5 – 67,20 ^{AB}	46,3 – 47,79 ^{AC}	38,2 ^G	23,9-24,5 ^{H^I}
Ca (µg g ⁻¹)	1057 – 1249	1460 – 1800 ^{AB}	330,0 – 640,5 ^{AC}	1400 ^G	149 ^I
Mg (µg g ⁻¹)	1138 – 1740	3250 – 3650 ^{AB}	2370 – 2770,0 ^{AC}	1780 ^G	1327-2770 ^{H^I}
Mn (µg g ⁻¹)	22,9 – 41,4	15,9 – 16,5 ^{AB}	11,0 ^A	49 ^G	32,1 ^I
Zn (µg g ⁻¹)	10,2 – 20,9	35,1 – 42,0 ^{AB}	47,0 – 49,8 ^{AC}	41 ^G	24,2-62 ^{H^I}
Cu (µg g ⁻¹)	7,00 – 16,9	14,0 – 17,9 ^{AB}	19,2 ^A	14,5 ^G	7,48-29,3 ^{H^I}
Se (µg g ⁻¹)	26,4 – 46,9	11,48 – 36,1 ^{BE}	0,0102 ^C	-	-
Ácidos graxos saturados (mg 100 g ⁻¹)	18,8 – 23,3	24,5 – 26,7 ^{DE}	20,20 – 20,22 ^{DE}	18,8 ^G	31,5 ^I
Ácidos graxos monoinsaturados (mg 100 g ⁻¹)	34,2 – 45,7	29,97 – 38,6 ^{DE}	56,87 – 58,13 ^{DE}	53,1 ^G	40,4 ^I
Ácidos graxos poli-insaturados (mg 100 g ⁻¹)	32,7 – 47,0	36,8 – 43,0 ^{DE}	21,03 – 22,22 ^{DE}	28,0 ^G	12,2 ^I
α-Tocoferol (mg 100 g ⁻¹)	0,75 – 2,24	5,44 – 8,29 ^{DE}	0,36 – 1,48 ^{DE}	5,0-7,43 ^{F^G}	1,64 ^I
γ-Tocoferol (mg 100 g ⁻¹)	19,2 – 28,5	11,62 – 14,63 ^{DE}	5,56 – 5,72 ^{DE}	3,61-4,3 ^{F^G}	0,11 ^I
β-sitosterol (mg 100 g ⁻¹)	92,8 – 194	62,7 – 132,54 ^{DE}	111,0 – 176,8 ^{DE}	63,89 ^F	184 ^I
Estigmasterol (mg 100 g ⁻¹)	9,92 – 13,2	5,5 – 5,7 ^{DE}	0,7 – 11,67 ^{DE}	14,21 ^F	54 ^I
Campesterol (mg 100 g ⁻¹)	8,42 – 9,63	1,2 – 2,69 ^{DE}	8,6 – 10,53 ^{DE}	5,50 ^F	18 ^I

*Variação: A1, A2, A3 e B1, ^AUniversidade Estadual de Campinas (2011), ^BSantos *et al.* (2013), ^CSousa *et al.* (2011), ^DYang (2009), ^ERobbins *et al.* (2011), ^FMarques *et al.* (2015), ^GTakemoto *et al.* (2001), ^HFráguas *et al.* (2015), ^IPolicarpi *et al.* (2018).
 Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018).

4. CONCLUSÃO

A avaliação dos compostos nutricionais e bioativos da castanha de sapucaia e seus subprodutos mostrou um potencial nutricional para essas matérias-primas. A alta proteína, fibra alimentar e minerais presentes na castanha e na torta de sapucaia indicam que esta matéria-prima pode ser utilizada como ingrediente rico em nutrientes em diferentes aplicações. O teor de selênio pode limitar o consumo direto da castanha. Por outro lado, a ingestão de Se em regiões de alta exposição a Hg pode ser importante devido ao efeito protetor contra Hg. Além disso, as castanhas são ricas em cálcio e magnésio. O óleo de noz de sapucaia é uma excelente fonte de compostos bioativos, como os ácidos oléico e linoléico, γ -tocoferol e β -sitosterol, podendo ser utilizado como matéria-prima promissora para a indústria de alimentos.

Desse modo, os dados obtidos neste estudo podem ser utilizados para estimular a produção e consumo local deste tipo de castanha, levando ao seu desenvolvimento econômico.

REFERÊNCIAS

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis of the AOAC. (18th. Ed.), AOAC, Arlington, VA, 2005.

AOCS - **American Oil Chemists Society**. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, (5th.Ed.), AOCS, Champaign, IL., 2004.

ATSDR - **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**. (2017). Minimal Risk Levels (MRLs) for Hazardous Substances. Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/mrls/mrllist.asp#64tag>. Accessed 10 July 2017.

AUNE, D.; KEUM, N.; GIOVANNUCCI, E.; FADNES, L. T.; BOFFETTA, P.; GREENWOOD, D. C.; TONSTAD, S.; VATTEN, L. J.; RIBOLI, E.; NORAT, T. Nut consumption and risk of cardiovascular disease, total cancer, all-cause and cause-specific mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **BMC Medicine**, v. 14, p. 207, 2016.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Comparative evaluation of three methods for determination of cholesterol in egg yolk. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. V. 36, p. 237-251, 1993.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n° 270, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Brasília: Diário Oficial da União. <http://www.oliva.org.br/wp-content/uploads/2016/11/resolucao-rdc-n270-22-09-2005.pdf> (2005), Acesso em: 23 de julho de 2017.

CARDOSO, B. R.; DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; COZZOLINO, S. M. F. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**. v. 100, p. 9-18, 2017).

CARVALHO, M.G.; COSTA, J. M. C.; SOUZA, V. A. B.; MAIA, G.A. Evaluation of some physical and nutritional parameters of almonds of

chichá, sapucaia and castanha-do-gurguéia. **Revista Ciência Agrônômica**.V. 39, p. 517–23, 2008.

CARVALHO, I. M. M.; QUEIRÓS, L. D.; BRITO, L. F.; SANTOS, F. A.; BANDEIRA, A. V. M.; DE SOUZA, A. L.; DE QUEIROZ, J. H. Chemical characterization of sapucaia nuts (*Lecythis pisonis* Cambess.) from zona da mata mineira region. **Bioscience Journal**.v. 28, p. 971-977, 2012.

CASTELO-BRANCO, V.N.; SANTANA, I.; DI-SARLI, V. O.; FREITAS, S. P.; TORRES, A. G. Antioxidant capacity is a surrogate measure of the quality and stability of vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Tecnology**. v. 118, p. 224-235, 2016.

CODEX ALIMENTARIUS COMISSION. **General standard for contaminants and toxins in foods**. FAO/WHO, Rome (1996).

COLPO, E.; DALTON, D. A. V. C.; REETZ, L. G.; DUARTE, M. M.; FARIAS, I. L.; MEINERZ, D. F.; MARIANO, D. O.; VENDRUSCULO, R. G.; BOLIGON, A. A.; DALLA, C. C. L.; WAGNER, M. L.; ATHAYDE, M. L.; DA ROCHA, J. B. Brazilian nut consumption by healthy volunteers improves inflammatory parameters. **Nutrition**.v. 30, p. 459-465, 2014.

COSTA, T.; JORGE, N. Characterization and fatty acids profile of the oils from Amazon nuts and walnuts: characterization and fatty acids profile of the oil seeds. **Nutrition and Food Science**. v. 42, p. 279–87, 2012.

DEMOLINER, F.; POLICARPIA, P. B.; RAMOS, J. C.; BASCUÑAN, V.L.A. F.; FERRARI, R. A.; JACHMANIÁND, I.; CASAS, A. F. VASCONCELOS, L.F. L.; BLOCK, J.M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**. v. 108, p. 27–34, 2018.

DENADAI, S. M. S; HIANE, P. A.; MARANGONI, S.; BALDASSO, P. A.; MIGUEL, A. M. R. O.; MACEDO, M. L. R. In vitro digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Food Science and Technology**.v. 27, p. 535-543, 2007.

DESAI, A. J.; DONG, M.; MILLER, L. J. Beneficial effects of β -sitosterol on type 1 cholecystokinin receptor dysfunction induced by elevated membrane cholesterol. **Clinical Nutrition**.v. 35, p. 1374-1379, 2016.

FAO/WHO. **Human Vitamin and Mineral Requirements**. Report of a joint FAO/WHO expert consultation Bangkok, Thailand, p. 151-270, 2001.

FOOD AND NUTRITION BOARD.**Dietary Reference Intake (DRIs): Recommended intakes for individuals elements** Institute of Medicine, National Academies Press (2004).

FARDELLONE, P. Calcium, magnesium and natural mineral waters. **Cahiers de Nutrition et de Di t t que**.v. 55, p. 22-29, 2015.

FR GUAS, R. M.; SIM O, A. A.; LIMA, R. A. Z.; ROCHA, D. A.; QUEIROZ, E. R.; BRAGA, M. A.; ABREU, C. M. P. Chemical constituents of chich  (*Sterculia Striata* St. Hil. Et Naud.) seeds. **African Journal of Agricultural Research**. v. 10, p. 965-969, 2015.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, London, v. 22, p. 475-476, 1973.

JIANG, Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. **Free Radical Biology and Medicine**.v. 72, p. 76-90, 2014.

KUMAR, B. S.; PRIYADARSINI, K. I. Selenium nutrition: How important is it?. **Biomedicine & Preventive Nutrition**.v. 4, p. 333-341, 2014.

LEMIRE, M.; FILLION, M.; BARBOSA J. R; F., GUIMAR ES, J. R. D.; MERGLER, D. Elevated levels of selenium in the typical diet of Amazonian riverside populations. **Science of the Total Environment**.V. 408, p. 4076-4084, 2010.

MARQUES, F. G.; NETO, J. R. O.; CUNHA, L. C.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Identification of terpenes and phytosterols in *Dipteryx alata* (baru) oil seeds obtained through pressing. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 25, p. 522-525, 2015.

NDANUKO, R. N.; TAPSELL, L. C.; CHARLTON, K. E.; NEALE, E. P.; O'DONNELL, K. M.; BATTERHAM, M. J. Relationship between sodium and potassium intake and blood pressure in a sample of overweight adults. **Nutrition**. v. 33, p. 285-290, 2017.

NAOZUKA, J.; VIEIRA, E. C.; NASCIMENTO, A. N.; OLIVEIRA, P. V. Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP OES. **Food Chemistry**.v. 124, p. 1667-1672, 2011.

NIELSEN, F. H. Should bioactive trace elements not recognized as essential, but with beneficial health effects, have intake recommendations. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**.v. 28, p. 406-408, 2014.

NISHI, S. K.; KENDALL, C. W. C.; BAZINET, R. P.; BASHYAM, B.; IRELAND, C. A.; AUGUSTIN, L. S. A.; MEJIA, S. B.; SIEVENPIPER, J. L.; JENKINS, D. J. A. Nut consumption, serum fatty acid profile and estimated coronary heart disease risk in type 2 diabetes. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**.v. 24, p. 845-852, 2014.

PANFILI, G.; FRATIANNI, A.; IRANO, M. Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. **Journal Agriculture Food Chemistry**.v. 51, p. 3940-3944, 2003.

PARMALEE, N. L.; ASCHNER, M. Manganese and aging. **Neuro Toxicology**.v. 56, p. 262-268, 2016.

POLICARPI, P. B.; TURCATTO, L.; DEMOLINER, F.; FERRARI, R. A.; BASCUÑAN, V. L. A. F.; RAMOS, J. C.; JACHMANIÁN, I.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Nutritional potential, chemical profile and antioxidant activity of Chichá (*Sterculia striata*) nuts and its by-products. **Food Research International**. v. 106, p. 736-744, 2018.

RABADÁN, A.; ÁLVAREZ-ORTÍ, M.; GÓMEZ, R., ALVARRUIZ, A.; PARDO, J. E. Optimization of pistachio oil extraction regarding processing parameters of screw and hydraulic presses. **LWT – Food Science and Technology**.v. 83, p. 79-85, 2017.

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

ROMAN, M.; JITARU, P.; BARBANTE, C. Seleniun biochemistry and its role for human health. **Metallomics**.V. 6, p. 25-54, 2014.

SAKAMOTO, M.; YASUTAKE, A.; KAKITA, A.; RYUFUKU, M.; CHAN, H. M.; YAMAMOTO, M.; OUMI, S.; KOBAYASHI, S.; WATANABE, C. Selenomethionine Protects Against Neuronal Degeneration by Methyl mercury in the Developing Rat Cerebrum. **Environmental Science & Technology**.v. 47, p. 2862–2868, 2013.

SALAS-SALVADÓ, J.; BULLÓ, M.; PÉREZ-HERAS, A.; ROS, E. Dietary fiber, nuts and cardiovascular diseases. **The British Journal of Nutrition**.v. 96, p. 46-51, 2006.

SANTOS, O. V.; CORRÊA, N. C. F.; CARVALHO J. R. R. N.; COSTA, C. E. F.; FRANÇA, L. F. F.; LANNES, S. C. S. Comparative parameters of the nutritional contribution and functional claims of Brazil nut kernels, oil and defatted cake. **Food Research International**.v. 51, p. 841-847, 2013.

SEGURA, N.; SILVA, R. C.; SOARES, F. A. S. M.; GIOIELLI, L. A.; JACHMANIÁN, I. Valorization of Beef Tallow by Lipase-Catalyzed Interesterification with High Oleic Sunflower Oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**.v. 88, p. 1945-1954, 2011.

SCHEIBER, I. F.; MERCER, J. F. B.; DRINGEN, R. Metabolism and functions of copper in brain. **Progress in Neurobiology**.v. 16, p. 33-57, 2014.

SHAHZAD, N.; KHAN, W.; ALI, A.; SALUJA, S. S.; SHARMA, S.; AL-ALLAF, F.; ABDULJALEEL, Z.; IBRAHIM, I. A. A.; ABBDELWAHAD, A. F.; AFIFY, M. A.; AL-GHAMDI, S. S. Phytosterols as a natural anticancer agent: Current status and future perspective. **Biomedicine & Pharmacotherapy**.v. 88, p. 786-794, 2017.

SILVA JÚNIOR, E. C.; WADT, L. H. O.; SILVA, K. E.; LIMA, R. M. B.; BATISTA, K. D.; GUEDES, M. C.; CARVALHO, G. S.; CARVALHO, T. S.; REIS, A. R.; LOPES, G.; GUILHERME, L. R. G.

Natural variation of selenium in Brazil nuts and soils from the Amazon region. **Chemosphere**.v. 188, p. 650-658, 2017.

SOUSA, A. G.; FERNANDES, D. C.; ALVES, A. M.; FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**.v. 44, p. 2319-2325, 2011.

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. (2011). Unicamp, 4ª Ed. www.unicamp.br/nepa/taco. Acesso em: 23 de agosto de 2017.

TAKEMOTO, E.; OKADA, I.A.; GARBELOTTI, M.L.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S. Composição Química da Semente e do Óleo de baru (*Dypterix alata* Vog.). **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v. 60, p. 113-117, 2001.

TEIXEIRA, G. L.; ÁVILA, S.; RIBANI, M.; SILVEIRA, J. L. M.; RIBANI, R. H. Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils: a potential source of vegetable oil in industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. V.131, p. 2105-2121, 2018a.

TEIXEIRA, G. L.; GHAZANI, S. M.; CORAZZA, M. L.; MARANGONI, A. G.; RIBANI, R. H. Assessment of subcritical propane, supercritical CO₂ and Soxhlet extraction of oil from sapucaia (*Lecythis pisonis*) nuts. **The Journal of Supercritical Fluids**.V. 133, p. 122-132, 2018b.

USDA - **United States Department of Agriculture**. (2017). Agricultural Research Service – ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=21714>. Acesso em: 06 de janeiro de 2018.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S.; CAMPOS, N.C.; MOITA NETO, J. M. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**.v. 66, p. 197-200, 1999.

WANI, A. L.; PARVEEN, N.; ANSARI, M. O.; AHMAD, M. F.; JAMEEL, S.; SHADAB, G. G. H. A. Zinc: An element of extensive medical importance. **Current Medicine Research and Practice**.v. 7, p. 90-98, 2017.

WICKENS, G. E. **Edible nuts**.Roma: FAO. (Non Wood Forest Products, 5). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, p. 69-71, 1995.

YADA, S., HUANG, G., & LAPSLEY, K. Natural variability in the nutrient composition of California-grown almonds. **Journal of Food Composition and Analysis**.v. 30, p. 80-85, 2013.

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

ZANG, C.; WANG, X.; ASHRAF, U.; QIU, B.; ALI, S. Transfer of lead (Pb) in the soil-plant-mealybug-ladybird beetle food chain, a comparison between two host plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**.v. 143, p. 289-295, 2017.

**CAPÍTULO 3 - PERFIL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASTANHA DE SAPUCAIA
(*Lecythis pisonis* Cambess) E SEUS SUBPRODUTOS.**

Esse capítulo foi baseado no artigo intitulado “Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: Phenolic compounds profile”, publicado na revista “Food Research International”.
(<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.050>).

CAPÍTULO 3 - PERFIL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess) E SEUS SUBPRODUTOS.

RESUMO

Lecythis pisonis Camb. pertence à família botânica Lecythidaceae e é popularmente conhecida no Brasil como “sapucaia”, árvore presente na maioria das regiões do Brasil. É uma castanha rica em ácidos graxos essenciais, proteínas, fibras alimentares e minerais. Estudos sobre o perfil fenólico da castanha de sapucaia e a atividade antioxidante ainda são escassos na literatura. Neste estudo, o perfil dos compostos bioativos da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) e seus subprodutos foram investigados. Determinou-se o perfil fenólico por LC-ESI-MS / MS, o teor total de fenólicos, os taninos condensados e a atividade antioxidante da castanha e casca de sapucaia. Foram identificados 14 compostos fenólicos no extrato de sapucaia, principalmente ácidos fenólicos e flavonóides. Catequina, epicatequina, miricetina, ácido elágico e ácido ferúlico apresentaram correlação significativa com a atividade antioxidante. A casca da sapucaia continha 22 compostos fenólicos, dos quais 13 foram quantificados. O extrato de casca de sapucaia apresentou alto teor de compostos fenólicos totais, alto teor de taninos condensados e alta atividade antioxidante. A maior atividade antioxidante da casca pode estar associada a um maior teor de fenólicos. De maneira geral, pode-se concluir que a castanha de sapucaia é uma matéria-prima rica em compostos fenólicos que apresentam alta atividade antioxidante. A castanha e torta podem ser usados como matéria-prima promissora para a indústria de alimentos, enquanto as cascas podem ser uma fonte alternativa de antioxidantes naturais. Outras utilizações na indústria cosmética e farmacêutica também podem ser consideradas. (DEMOLINER *et al.*, 2018b).

Palavras-chave: Casca da castanha de sapucaia. LC-ESI-MS/MS. Antioxidante.FRAP. ABTS. DPPH.

1. INTRODUÇÃO

Lecythis pisonis Cambess, popularmente conhecida como “sapucaia” ou “cumbuca de macaco”, pertence à família Lecythidaceae. Esta castanha é oriunda da Amazônia brasileira e é amplamente distribuída pelo Brasil, principalmente na Mata Atlântica e na Amazônia (BRANDÃO *et al.*, 2013; VALLILO *et al.*, 1999). A castanha e torta de sapucaia são excelentes fontes de proteínas, fibras alimentares e selênio. Por outro lado, o óleo de sapucaia é fonte de ácidos graxos insaturados (ácidos oléico e linoléico), γ -tocoferol e β -sitosterol (DEMOLINER *et al.*, 2018a). Várias partes de plantas de sapucaia, como folhas, conchas e óleo, também são usadas na medicina popular (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; FRANCO; BARROS, 2006; WICKENS, 1995). Efeitos antipruriginosos e a atividade antinociceptiva das folhas de *Lecythis pisonis* foram relatados na literatura (BRANDÃO *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, diversos estudos têm investigados os compostos fenólicos de castanhas e seus subprodutos (GOMES; TORRES, 2016; HILBIG *et al.*, 2018; JOHN; SHAHIDI, 2010; ROBBINS *et al.*, 2015). Os compostos fenólicos, incluindo flavonóides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos, lignanas e aldeídos fenólicos desempenham um papel importante na saúde humana, principalmente devido às suas propriedades antioxidantes (TAŞ; GÖKMEN, 2017). Diversos estudos relataram que a atividade antioxidante dos compostos fenólicos está associada à proteção contra doenças como diabetes, câncer, hipercolesterolemia e doenças cardiovasculares (ALASALVAR; BOLLING, 2015; HILBIG *et al.*, 2018; KALIORA *et al.*, 2014; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Por outro lado, devido à capacidade dos compostos fenólicos de capturar os radicais livres, castanhas e seus subprodutos têm recebido atenção dos consumidores, cientistas e da indústria de alimentos, pois podem fornecer uma fonte natural alternativa de antioxidantes naturais, que podem ser usados para substituir antioxidantes sintéticos (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

A castanha de sapucaia e seus subprodutos é uma matéria-prima pouco conhecida e subutilizada. Estudos sobre compostos fenólicos e atividade antioxidante da castanha de sapucaia e seus subprodutos ainda são escassos na literatura. Portanto, o uso desta castanha na dieta pode ser considerado uma alternativa para melhorar a dieta da população brasileira. Ainda, os seus subprodutos podem ser utilizados como fonte alternativa de antioxidantes naturais. Com base nesse contexto, com o

intuito de divulgar as potencialidades fenólicas e antioxidantes da castanha de sapucaia e seus subprodutos, o objetivo desta pesquisa foi identificar e quantificar os compostos fenólicos dos extratos obtidos a partir da castanha e casca de sapucaia por LC-ESI-MS/MS e, avaliar sua atividade antioxidante.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

As castanhas de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) provenientes de Teresina, Piauí, Brasil (amostras A1, A2 e A3) foram fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Meio-Norte). As amostras de castanhas de sapucaia provenientes de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (amostra B1) foram fornecidas pela Universidade Federal de Viçosa. Cerca de 600 g de cada amostra foram obtidos. Todas as mostras foram coletadas em outubro de 2016.

2.2. Reagentes químicos

Reagente fenol Folin-Ciocalteu, ácido gálico, vanilina, (+) - catequina hidratada, ABTS [ácido 2,2-azino-bis- (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)], DPPH (2,2-difenil-1 -piciril-hidrazil), 2,2-2,4,6-tripiridiltriazina (TPTZ) e Trolox foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Solução estoque (1000 mg L⁻¹ em metanol a 100%) de padrões de fenólicos ultra-puros (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foram preparados e armazenados em freezer (foram usados para preparar as curvas de calibração de compostos fenólicos usando a diluição apropriada da mistura). Todos os outros reagentes químicos e solventes utilizados no experimento foram de grau analítico (PA) e obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil) e da Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha).

2.3. Obtenção dos extratos

2.3.1. Obtenção da farinha de sapucaia e do pó da casca de sapucaia

As castanhas e cascas de sapucaia foram secadas, separadamente, a 40 °C por 60 min em estufa com circulação de ar (modelo 400 / D, Nova Ética[®], Vargem Grande Paulista, Brasil) para reduzir sua umidade. Em seguida, as amostras foram moídas utilizando um moinho de laboratório analítico (modelo Q298A, Quimis[®], Diadema, Brasil) e peneiradas em peneira de 60 mesh. As castanhas e as cascas foram desengorduradas com hexano (1:20 m / v, 30 min x 3) em um agitador mecânico (modelo TE-139, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil) a uma temperatura ambiente de 22 °C. As amostras desengorduradas

foram secas ao ar até a evaporação total do solvente e armazenadas em frascos âmbar com uma atmosfera de nitrogênio a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ para a preparação dos extratos (PRADO *et al.*, 2009).

2.3.2. Extração sequencial (Teste preliminar)

Para determinar o melhor solvente na extração dos compostos fenólicos da castanha e casca, foram realizadas extrações sequenciais de acordo com Jardim; Mancini Filho (2007) e Prado *et al.* (2009), com modificações. Foram utilizados cinco solventes em ordem crescente de polaridade (éter etílico, acetona, etanol, metanol e água destilada). As extrações foram realizadas na proporção de 1:20 m/v. As amostras em (farinha da castanha e pó da casca) foram homogeneizadas, separadamente, em agitador magnético (modelo TE-0852, marca Tecnal[®], Piracicaba, Brasil) durante uma hora e em seguida, filtrados a vácuo em papel filtro (marca Whatman 541, 125 mm) com auxílio de uma bomba à vácuo (modelo 132, marca Primatec[®], Itu, Brasil). O volume do filtrado foi completado com o solvente até 50 mL, mantendo a proporção 1:20 m/v, armazenados em frasco âmbar, com atmosfera de nitrogênio a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análises de compostos fenólicos totais. Os resíduos da extração sequencial, após cada etapa de extração, foram secos em estufa com circulação de ar a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a evaporação completa do solvente e submetidos a extração subsequente. Com este teste obteve-se água destilada como melhor solvente de extração de compostos fenólicos totais da castanha de sapucaia e metanol:água (80:20) para casca de sapucaia.

2.3.3. Extração assistida por ultrassom

Com base nos resultados preliminares da extração sequencial, os solventes que melhor extraíram os compostos fenólicos totais da castanha e casca de sapucaia foram utilizados para a extração assistida por ultrassom. Para a obtenção do extrato da castanha e da casca de sapucaia foi utilizado um dispositivo de banho ultrassom (EGS 5HD, 40 kHz, 300 W, Enge Solutions[®], São Paulo, Brasil). As amostras da farinha de castanha de sapucaia (1 g) e o pó da casca de sapucaia (1 g) foram colocadas em frascos de Erlenmeyer, e adicionados 30 mL do solvente apropriado (água para amostras de castanha e metanol: água - 80: 20 para amostras de casca). Em seguida, as amostras foram sonicadas a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 60 min em um banho de limpeza ultrassônico. Após sonicção, os extratos foram filtrados com filtro de

papel (Whatman no 541, 125 mm) e armazenados em frascos âmbar sob atmosfera de nitrogênio a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posteriores análises. As condições operacionais para obtenção dos extratos de castanha e casca de sapucaia foram com base no método relatado por Hilbig *et al.* (2018).

2.4. Identificação e quantificação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS / MS

2.4.1. Preparo das amostras

A preparação das amostras foi realizada seguindo a metodologia descrita por Schulz *et al.* (2015), com algumas modificações. Uma alíquotas de 1 mL da solução do extrato foi misturada com 5 mL de metanol HPLC (99,9%) e 5 mL de ácido clorídrico e submetidas à hidrólise ácida em estufa (modelo 400 / D200 $^{\circ}\text{C}$, New Ethics[®], São Paulo, Brasil) a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min. A solução foi ajustada para pH 2 usando NaOH (6 mol. L^{-1}). Em seguida, realizou-se a extração por partição (três vezes) com 10 mL de éter etílico, seguida de centrifugação a 3000 g por 10 min. Os sobrenadantes foram combinados e o solvente orgânico foi removido usando um evaporador rotativo (modelo 558, Fisatom[®], São Paulo, Brasil). O extrato seco foi dissolvido em 1 mL de metanol e diluído 10 vezes com metanol água (70:30, v/v) para injeção no sistema LC-ESI-MS/MS.

2.4.2. Análise dos compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS

A identificação e quantificação de compostos fenólicos foram realizadas utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (LC) (modelo 1200 Series, Agilent Technologies[®], Waldbronn, Alemanha), de acordo com o método relatado por Schulz *et al.* (2015). A separação dos analitos foi realizada numa coluna Synergi[™] Polar-RP 80 A (tamanho de partícula de $4,0\text{ }\mu\text{m}$, 150 mm, diâmetro interno de $2,0\text{ mm}$, Phenomenex, EUA) usando um Cartuchos SecurityGuard Polar-RP 80A ($4,0\text{ }\mu\text{m} \times 2,0\text{ mm}$, Phenomenex, EUA). As fases móveis foram misturas de metanol a 95% e água a 5% (v/v) (canal A) e água e ácido fórmico a 0,1% (v/v) (canal B). A separação foi realizada a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizando eluição gradiente segmentada como: 0 - 5 min, 10% A; 5 a 7 min, 90% A; 7 a 10 min, 90% A; 10–17 min, 10% A. Entre as análises, a coluna foi condicionada por 5 min com a proporção da fase móvel inicial. O fluxo de fase móvel foi de $250\text{ }\mu\text{L min}^{-1}$ e a quantidade de amostra injetada foi de 10 μL .

O sistema LC foi acoplado a uma espectrometria de massa com analisador triploquadropolo e ion *trap linear* modelo Q Trap 3200 (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá). O espectro de massa foi operado em modo de ionização negativa de *electrospray TurboIonSpray*TM (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá). Os parâmetros MS/MS foram: agulha capilar, mantida a -4500 V; gás de cortina, 10 psi; temperatura, 400 °C; gás 1, 45 psi; gás 2, 45 psi; gás CAD, médio. Outros parâmetros para: DP - Potencial de Desagregação; EP - Potencial de Entrada; CEP - Potencial de Energia de Colisão; CE - Energia de Colisão; CXP – Potencial de saída da célula de colisão. Os 49 padrões de compostos fenólicos testados e os parâmetros da espectrometria de massas estão descritos no ANEXO A. O software Analyst versão 1.5.1 foi utilizado para o controle do sistema LC-ESI-MS/MS e análise de dados. A identificação dos compostos fenólicos por LC-MS/MS foi realizada comparando os tempos de retenção e os espectros de massa dos picos desconhecidos com os dos padrões. Os resultados de concentração dos compostos fenólicos nas amostras foram expressos em mg.g^{-1} de extrato de castanha e casca seca.

2.5. Determinação de compostos fenólicos totais (FT)

Os FT foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (PRADO *et al.*, 2009; SINGLETON; ROSSI, 1965), com algumas modificações. Para a reação de oxidação, uma alíquota de 0,1 mL da solução do extrato ($0,033 \text{ g mL}^{-1}$) foram transferidas para balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 1,5 mL de carbonato de sódio saturado (75 g L^{-1}) foram adicionados, e o volume de cada frasco foi completado com água destilada, agitado e deixado no escuro a temperatura ambiente por 2 h. A absorbância da solução foi medida a 764 nm em espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil) e correlacionada a uma curva de calibração do ácido gálico (50 a 1000 mg L^{-1}). A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg GAE g^{-1}) em peso seco.

2.6. Determinação da atividade antioxidante

2.6.1. Método FRAP

O ensaio de FRAP foi realizado de acordo com o método descrito por Benzie; Strain (1996) e Arnous; Makris; Kefalas (2002),

com modificações. O método baseia-se na redução de um complexo férrico 2,4,6-tripiridil-s-triazina (Fe^{3+} - TPTZ) por antioxidantes na forma ferrosa (Fe^{2+} - TPTZ). Uma alíquota de 0,2 ml da solução do extrato ($0,033 \text{ g mL}^{-1}$) e 0,2 mL de FeCl_3 (3 mmol L^{-1} em 5 mol L^{-1} ácido cítrico) foram misturados em um tubo e incubados por 30 min em banho-maria a 37°C . Em seguida, foram adicionados 3,6 mL de solução de TPTZ ($0,0780 \text{ g}$ diluídos em 250 mL de HCl $0,05 \text{ M}$) e a solução resultante foi homogeneizada em agitador de tubos e mantida em banho de gelo por 10 min. A absorbância (620 nm) foi medida em um espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). A curva padrão Trolox ($20\text{-}1000 \text{ }\mu\text{M}$) foi utilizada para quantificar os resultados, que foram expressos em $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ em peso seco (μmol capacidade antioxidante equivalente em Trolox g^{-1} de amostra).

2.6.2. Método ABTS

O ensaio ABTS [2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)] foi realizado de acordo com Re *et al.* (1999) com algumas modificações. O radical ABTS^+ (7 mM – $0,03836 \text{ g}$ ABTS dissolvido em 10 mL de água desionizada) foi misturado com 10 mL de solução de persulfato de potássio ($2,45 \text{ mM}$ – $0,0331 \text{ g}$ de persulfato de potássio dissolvido em 25 mL de água desionizada), homogeneizado e armazenado por 12-16 h à temperatura ambiente na ausência de luz. A solução de radical ABTS foi diluída em etanol para alcançar um valor de absorbância de ($0,70 \pm 0,02$) a 734 nm. O radical ajustado apresentou A_0 . Foram adicionados 20 μL da amostra ($0,033 \text{ g mL}^{-1}$) e 980 μL de solução ABTS em tubos de ensaio, e após 6 min a absorbância foi medida em um espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 734 nm, em cubeta de vidro de 1 mL, obtendo-se A_f . A percentagem de inibição radical foi calculada usando a seguinte equação: % de inibição radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde, “ A_0 ” é a absorbância inicial e “ A_f ” é a absorbância final. Uma curva padrão da solução estoque Trolox ($190, 390, 590, 790$ e $1000 \text{ }\mu\text{mol mL}^{-1}$) foi usada para quantificar os resultados. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ em peso seco (μmol capacidade antioxidante equivalente em Trolox g^{-1} da amostra).

2.6.3. Método DPPH

O ensaio do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi realizado de acordo com Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995), com modificações, conforme descrito por Mensor *et al.* (2001) e Prado *et al.* (2009). Inicialmente, uma alíquota de 2,9 mL de solução de DPPH (0,1 mM - 0,03943 g de DPPH dissolvido em 10 mL de etanol) foi transferida para tubos de ensaio contendo 0,1 mL de extrato (0,033 g mL⁻¹). As amostras foram mantidas na ausência de luz por 30 min e, em seguida, a absorbância foi medida com um espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 515 nm. A percentagem de inibição de radical foi calculada usando a seguinte equação: % de inibição radical = $(1 - A_f/A_0) \times 100$, onde “A₀” é a absorbância inicial e “A_f” é a absorbância final. Uma curva padrão da solução estoque Trolox (80, 160, 320, 640 e 1280 µmol mL⁻¹) foi usada para quantificar os resultados. Os resultados foram expressos em µmol TEAC g⁻¹ em peso seco (µmol capacidade antioxidante equivalente de Trolox g⁻¹ de amostra).

2.7. Determinação de taninos condensados (TC)

A determinação dos taninos condensados foi realizada de acordo com o método descrito por Price; Van Scoyoc; Butler (1978) e adaptado por Villarreal-Lozoya; Lombardini; Cisneros-Zevallos (2007). Uma alíquota de 1 mL da solução do extrato (0,033 g mL⁻¹) foi adicionada em dois tubos de ensaio separados (um para a amostra e um para a solução do branco). Em seguida, adicionaram-se 5 ml de reagente de vanilina (0,5 g de reagente e 200 ml de HCl a 4% em metanol) a cada amostra e adicionou-se HCl a 4% em metanol à solução do branco. Os tubos de ensaio foram mantidos na ausência de luz por 20 min e a absorbância foi medida a 500 nm em um espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Utilizou-se uma curva padrão de solução de catequina (0, 10, 37,5, 75, 150, 300, 600 e 1200 mg L⁻¹) para quantificação e os resultados foram expressos em equivalente de catequina (mg CE g⁻¹) em peso seco.

2.8. Análise estatística

A distribuição normal e a homocedasticidade dos dados foram avaliadas pelos testes de Brown-Forsythe. A análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparação das médias em um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foram realizados utilizando o programa Statistica® 13.3 (TIBCO, Palo Alto, CA, USA). Correlações entre a

capacidade antioxidante e o teor fenólico das amostras foram realizadas pelo teste de Pearson. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média \pm desvio padrão (DP).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Perfil fenólico por LC-ESI-MS/MS

A Tabela 3.1 mostra os limites de detecção e quantificação, assim como os tempos de retenção, a equação da curva e o coeficiente de determinação obtidos a partir da análise dos compostos fenólicos.

Tabela 3.1: Íon precursor, íon quantitativo, tempo de retenção, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), equação da curva e coeficiente de determinação (R^2) dos compostos fenólicos identificados nas amostras de castanha e casca de sapucaia.

Compostos fenólicos	[M-H] / Íon quantitativo (m/z)	Tempo de retenção (min.)	LOD (mg L ⁻¹)*	LOQ (mg L ⁻¹ **	Equação da curva	Coefficiente de determinação (R ²)
Ácido Gálico	168,8/124,1	3,98	0,023	0,076	y = 52947x - 6035	1,0000
Ácido Protocatecuico	153,0/109,0	6,65	0,006	0,021	y = 1000000x + 7910	1,0000
Epigallocatequina	304,8/124,9	8,15	0,062	0,205	y = 70852x - 11230	0,9985
Catequina	288,8/120,3	8,82	0,009	0,029	y = 13524x + 9,562	0,9980
Ácido 4 -hidroximetilbenzóico	150,8/104,2	8,84	0,042	0,140	y = 40688x + 1577	0,9999
Epicatequina	288,9/122,3	9,41	0,032	0,107	y = 14791x + 392,3	0,9990
Ácido Vanílico	166,8/148,5	9,65	0,011	0,036	y = 14256x + 4519	0,9996
Ácido Siríngico	196,8/119,6	10,01	0,009	0,032	y = 89117x + 796,5	1,0000
Epicatequina galato	441,6/168,9	10,13	0,038	0,126	y = 12541x + 38,93	0,9998
Vanilina	150,8/132,8	10,42	0,014	0,048	y = 37874x - 280,3	0,9999
Ácido p-coumarico	163,0/119,0	10,46	0,001	0,005	y = 3000000x + 2534,5	0,9987
Taxifolina	302,8/120,7	10,70	0,006	0,019	y = 48429x - 39,69	0,9990
Ácido ferúlico	192,8/129,7	10,73	0,005	0,017	y = 39798x + 4065	0,9998
Quercetina	301,0/149,3	10,84	0,006	0,022	y = 47636x + 78,64	0,9968
Ácido sinápico	222,8/161,6	10,87	0,006	0,021	y = 81369x + 1409	1,0000
Ácido salicílico	136,9/91,1	10,99	0,005	0,017	y = 5000000x + 7550	0,9987
Miricetrina	316,9/150,6	11,24	0,200	0,680	y = 24750x - 14041	0,9997
Aromadendrina	286,8/123,9	11,29	0,002	0,007	y = 1000000x + 2991	0,9980
Sinapaldeido	206,9/174,4	11,39	0,002	0,009	y = 58654x - 925,8	0,9990
Ácido Elágico	300,8/142,5	11,71	0,013	0,044	y = 19867x + 695,4	0,9990
Campferol	284,8/62,6	12,34	0,013	0,446	y = 13276x + 148,4	0,9980
Naringenina	270,8/150,2	12,37	0,001	0,003	y = 1000000x - 31,99	0,9970

*Razão sinal/Ruído. **Níveis de Concentração.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018b).

Foram identificados 14 compostos fenólicos nos extratos de castanha de sapucaia, sendo sete ácidos fenólicos, seis flavonóides, e um aldeído fenólico (Tabela 3.2). A miricetrina e os ácidos vanílico, ferúlico e elágico foram os principais compostos quantificados em todas as amostras de sapucaia. Por outro lado, a catequina foi quantificada nas amostras A1 e B1 e epicatequina apenas na amostra A1. Na amostra A1, a concentração de ácido elágico, miricetrina, e catequina foram significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparado com as amostras A2, A3 e B1.

Foram identificados 22 compostos fenólicos nos extratos de casca de sapucaia, correspondendo a dez ácidos fenólicos, dez flavonóides e dois aldeídos fenólicos. Os ácidos gálico, protocatecuico, vanílico, ferúlico e elágico, epigalocatequina, catequina, epicatequina, taxifolina, miricetrina e vanilina foram quantificados em todas as amostras. O campferol foi quantificado apenas nas amostras A1, A3 e B1. Aromadendrina foi quantificada apenas nas amostras A1 e B1. A catequina foi o composto fenólico mais abundante encontrado na casca de sapucaia.

Embora os compostos fenólicos também tenham sido relatados para outras castanhas comestíveis, como a castanha do Brasil, de caju, de baru, noz pecan e castanha de chichá, não foi relatado na literatura para as castanhas de sapucaia (Tabela 3.3). Tanto a sapucaia quanto a noz pecan apresentam uma grande variedade de compostos fenólicos, no entanto, o perfil dos compostos fenólicos é diferente para essas matérias-primas. Entre os 22 compostos fenólicos quantificados em noz pecan, apenas os ácidos gálico, elágico, siringico, e a catequina também foram identificados na noz de sapucaia (ROBBINS *et al.*, 2015). Para a castanha do Brasil, caju e de baru foi relatada uma menor variedade de compostos fenólicos, provavelmente devido às diferenças entre o preparo da amostra e a metodologia analítica utilizada nesses estudos (GOMES; TORRES, 2016; JOHN; SHAHIDI, 2010; CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2011a; LEMOS *et al.*, 2012).

No ANEXO B e C estão os cromatogramas representativos das amostras de casca e castanha de sapucaia, respectivamente.

Tabela 3.2: Conteúdo de compostos fenólicos identificados (mg g⁻¹ de extrato seco) em castanha e casca de sapucaia.

Compostos fenólicos	Amostras (mg g ⁻¹)							
	A1		A2		A3		B1	
	Castanha	Casca	Castanha	Casca	Castanha	Casca	Castanha	Casca
<i>Ácido fenólico</i>								
Ácido gálico	<LOQ	0,453 ± 0,040 ^A	<LOQ	0,338 ± 0,004 ^A	<LOQ	0,149 ± 0,007 ^B	<LOQ	0,366 ± 0,006 ^A
Ácido Protocatecuico	-	0,040 ± 0,006 ^A	-	0,032 ± 0,003 ^A	-	0,020 ± 0,003 ^A	-	0,048 ± 0,014 ^A
Ácido 4-hidroxiacetilbenzoi- c	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ
Ácido vanílico	0,032 ± 0,001 ^a	0,443 ± 0,042 ^A	0,037 ± 0,006 ^a	0,326 ± 0,040 ^A	0,039 ± 0,002 ^a	0,454 ± 0,026 ^A	0,045 ± 0,014 ^a	0,075 ± 0,021 ^B
Ácido siríngico	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ácido <i>p</i> -coumárico	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ
Ácido ferúlico	0,014 ± 0,013 ^a	0,043 ± 0,010 ^A	0,011 ± 0,001 ^a	0,025 ± 0,010 ^A	0,023 ± 0,006 ^a	0,038 ± 0,002 ^A	0,018 ± 0,006 ^a	0,027 ± 0,001 ^A
Ácido sinápico	<LOQ	<LOQ	-	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	-
Ácido salicílico	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ácido elágico	0,065 ± 0,001 ^a	0,386 ± 0,047 ^A	0,024 ± 0,003 ^b	0,180 ± 0,031 ^B	0,021 ± 0,003 ^b	0,350 ± 0,056 ^A	0,021 ± 0,002 ^b	0,410 ± 0,023 ^A
<i>Flavonóides</i>								
Epigallocatequina	<LOQ	0,169 ± 0,036 ^A	<LOQ	0,031 ± 0,001 ^B	<LOQ	0,027 ± 0,001 ^B	<LOQ	0,061 ± 0,007 ^B
Catequina	0,144 ± 0,023 ^a	3,995 ± 0,294 ^{AB}	<LOQ	2,572 ± 0,410 ^B	<LOQ	4,692 ± 0,637 ^A	0,023 ± 0,011 ^b	3,606 ± 0,488 ^{AB}
Epicatequina	0,022 ± 0,005	1,338 ± 0,142 ^A	<LOD	0,611 ± 0,193 ^B	<LOD	1,010 ± 0,051 ^{AB}	<LOQ	0,795 ± 0,213 ^{AB}
Epicatequina Galato	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ
Taxifolina	<LOQ	0,191 ± 0,003 ^A	-	0,088 ± 0,043 ^{AB}	-	0,043 ± 0,001 ^B	<LOQ	0,171 ± 0,028 ^A

Quercetina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Miricetrina	0,047 ± 0,005 ^a	0,045 ± 0,001 ^A	0,019 ± 0,001 ^b	0,031 ± 0,005 ^A	0,021 ± 0,002 ^b	0,041 ± 0,010 ^A	0,032 ± 0,002 ^b	0,074 ± 0,020 ^A
Aromadendrina	-	0,013 ± 0,002 ^A	-	<LOQ	-	<LOQ	-	0,014 ± 0,001 ^A
Campferol	-	0,039 ± 0,002 ^A	-	<LOQ	-	0,010 ± 0,005 ^B	-	0,036 ± 0,006 ^A
Naringenina	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ
Aldeído fenol								
Vanilina	-	0,015 ± 0,003 ^A	-	0,025 ± 0,001 ^A	-	0,032 ± 0,016 ^A	-	0,010 ±0,001 ^A
Sinapaldeído	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

A1, A2, A3: amostras do Piauí. B1: amostras de Minas Gerais. Média ± DP (n = 3). ^{a-d} Mesma letra minúscula na mesma linha não diferem significativamente (Teste de Tukey, p<0,05) entre os extratos de castanha de sapucaia. ^{A-D} Mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem significativamente (teste de Tukey, p <0,05) entre os extratos de casca de sapucaia. -: <LOD (limite de detecção). LOQ: Limite de quantificação.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018b).

Tabela 3.3: Perfil fenólico dacastanha do Brasil, caju, baru, noz pecan e castanha de chichá e seus subprodutos (pele e casca dura).

Compostos fenólicos		Unidade	Castanha/Noz	Subproduto (pele/casca dura)	Referências
Castanha do Brasil	Ácido gálico	mg kg ⁻¹	70,0		Gomes; Torres (2016)
	Ácido protocatecúico		207		
	Catequina		421		
	Ácido <i>p</i> -Hidroxibenzóico		151		
	Ácido 2,4-Dihidroxibenzóico		168		
	Ácido <i>p</i> -Coumárico		136		
	Ácido Sinápico		124		
Castanha de caju	Ácido gálico	µg g ⁻¹	82,0 ^a , 52,0 ^b	294 ^a , 1639 ^b	John; Shahidi (2010)
	Ácido protocatecúico		120 ^a , 33,0 ^b	884 ^a , 1320 ^b	
	Catequina		25,0 ^b	2875 ^b	
	Ácido Vanílico		35,0 ^a , 9,0 ^b	58,0 ^a , 285 ^b	
	Ácido Elágico		11,0 ^a , 15,0 ^b	130 ^a , 77,0 ^b	
	Taxifolina		-	123 ^a , 333 ^b	
	Quercetina		-	28,0 ^b	
	Ácido gálico	mg g ⁻¹	0,11	0,36	
Siríngico		0,61	2,51		
Ácido <i>p</i> -coumárico		0,10	0,25		
Catequina		11,7	47,3		
Epicatequina		7,43	28,3		
Epigallocatequina		4,46	2,01		
Castanha de Baru	Ácido <i>p</i> -Coumárico	mg 100g ⁻¹	14,3 ^c , 2,60 ^f		Lemos <i>et al.</i> (2012)

	Ácido Elágico		8,50 ^e , 2,80 ^f	
	Ácido Caféico		6,30 ^e , 1,80 ^f	
	Ácido Gálico		224 ^e , 133 ^f	
	Ácido Hidroxibenzóico		2,30 ^e , 0,30 ^f	
	Catequina		87,2 ^e , 20,3 ^f	
	Ácido Ferúlico		45,4 ^e , 9,60 ^f	
	Epicatequina		23,9 ^e , 8,0 ^f	
Noz pecan	Ácido Caféico	μg g ⁻¹	6,74 ^a , 6,70 ^d	Robbins <i>et al.</i> (2015)
	Ácido Gálico		13,6 ^a , 79,0 ^c , 45,4 ^d	
	Ácido carboxílico de brevifolina		5,20 ^a	
	Dilactona ácido valônico		9,45 ^a , 109 ^c , 262 ^d	
	Pentose de Ácido Elágico		9,30 ^a	
	Ácido Elágico		132 ^a , 119 ^c , 103 ^d	
	Ácido Elágico Metila		7,40 ^a	
	Pentose de galloyl de ácido elágico		4,40 ^a	
	Pentose de ácido elágico metílico		8,50 ^a	
	Pentose de galloyl de ácido elágico		4,20 ^a	
	Ácido dimetílico elágico		3,10 ^a	
	Ácido protocatecúico		21,0 ^c	
	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico		48,0 ^c , 30,9 ^d	
	Ácido Sinapoylquinic		14,0 ^c	
	Ácido Metilelágico		7,0 ^c	
	Derivado de ácido elágico		7,0 ^c	
	Ácido Gálico		86,2 ^d	

			82,3 ^d		
			24,0 ^d		
			8,0 ^d		
		mg g ⁻¹		128 ^g , 138 ^h	Hilbig <i>et al.</i> (2018a)
				2,27 ^g , 3,30 ^h	
				0,62 ^g	
				2,38 ^g , 4,73 ^h	
				260 ^g , 352 ^h	
				0,15 ^g , 0,15 ^h	
				24,9 ^g , 24,4 ^h	
				6,92 ^g , 9,01 ^h	
				0,59 ^g , 0,90 ^h	
				0,29 ^g , 0,73 ^h	
				0,02 ^g , 0,10 ^h	
				0,14 ^g , 0,10 ^h	
				0,08 ^g , 0,14 ^h	
				3,99 ^g , 5,60 ^h	
				0,16 ^g , 0,31 ^h	
				0,01 ^g , 0,01 ^h	
				0,26 ^g , 0,28 ^h	
				0,05 ^g , 0,08 ^h	
				12,3 ^g , 58,3 ^h	
				11,6 ^g , 36,3 ^h	
				0,12 ^g , 0,12 ^h	
				0,05 ^g , 0,08 ^h	
Castanha	de	mg.100g ⁻¹	4,87 ^I	4,61 ^G	Policarpi <i>et al.</i> (2018a)
chichá					
			2,11 ^I	0,57 ^G	
			0,02 ^I	0,01 ^G	

Ácido salicílico	0,04 ^I	0,01 ^G
Ácido vanílico	0,32 ^I	0,37 ^G
Catequina	0,44 ^I	-

–: não detectado. ^aFenólicos livres. ^bFenólicos ligados. ^cEster-linked. ^dLigado a glicosídeos. ^eBaru com pele. ^fBaru sem pele.
^gExtrato aquoso da casca de noz pecan. ^hExtrato hidroalcoólico da casca de noz pecan. ⁱExtrato aquoso da castanha de chichá.
^jExtrato aquoso da casca de chichá.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018b).

A casca da castanha de chichá e a pele da castanha do Brasil de caju apresentaram uma menor variedade de compostos fenólicos identificados quando comparado a casca da castanha de sapucaia (POLICARPI *et al.*, 2018; CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2011a; JOHN; SHAHIDI, 2010) (Tabela 3.3). Além disso, dos 29 compostos fenólicos identificados na casca da noz pecan, 16 foram identificados na casca de sapucaia. Entre eles, epigallocatequina, epicatequina, vanilina, taxifolina e ácido ferúlico apresentaram maior teor na casca de sapucaia (HILBIG *et al.*, 2018a).

Alimentos contendo polifenóis, incluindo castanhas e nozes, podem trazer vários benefícios à saúde relacionados a atividade antioxidantes. O potencial mecanismo dos efeitos protetores dos compostos fenólicos tem sido amplamente relatado na literatura (CROFT *et al.*, 2018; LORENZO; MUNEKATA, 2016; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; SUZUKI-SUGIHARA *et al.*, 2016). Um achado importante deste estudo foi a presença em altas concentrações de ácidos fenólicos em amostras de sapucaia. Estudos comprovaram que a administração oral de ácido elágico, um dos ácidos fenólicos encontrados na castanha de sapucaia, apresenta efeito anti-inflamatório (ROSILLO *et al.*, 2012), neuroprotetor (BUSTO *et al.*, 2018), e anti-câncer (LARROSA; TOMAS-BARBERAN; ESPIN, 2006). Por outro lado, estudos experimentais com ratos e camundongos mostraram a eficácia do ácido vanílico no tratamento de doenças do fígado (ITO *et al.*, 2009), doenças cardiovasculares (PRINCE; RAJAKUMAR; DHANASEKAR, 2011) e efeito benéfico sobre colite ulcerativa (KIM *et al.*, 2010). A presença de diferentes compostos fenólicos na sapucaia ressalta a importância da incorporação desse tipo de castanha na dieta, pois pode trazer diversos benefícios para a saúde, como indicado em vários estudos.

Subprodutos de castanhas, como a casca, têm sido tradicionalmente usados para alimentar o gado e como matéria-prima na geração de energia. No entanto, vários estudos relataram uma alta atividade antioxidante em extratos obtidos a partir do subproduto de castanhas, indicando que eles podem funcionar como antioxidantes naturais e fontes funcionais de ingredientes alimentares (JOHN; SHAHIDI, 2010; CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2011b; RIBEIRO *et al.*, 2017; HILBIG *et al.*, 2018a; HILBIG *et al.*, 2018b). Por exemplo, extratos de casca de noz pecan podem ser usados como um produto natural para substituir o BHT (antioxidante sintético) na margarina (RIBEIRO *et al.*, 2017). Em outro estudo recente, HILBIG *et al.* (2018b) relataram que os extratos aquosos da casca da noz

pecanapresentaram atividade antitumoral contra células de câncer de mama humano MCF-7, diminuindo a viabilidade das células, aumentando a morte celular por apoptose e interrompendo o ciclo celular. Os autores concluíram que os compostos fenólicos presentes nos extratos da casca da noz pecan podem explicar a atividade antioxidante e o efeito contra o desenvolvimento de células tumorais.

3.2. Compostos fenólicos totais (FT), taninos condensados (TC) e capacidade antioxidante

A Tabela 3.4 mostra a FT, TC e a capacidade antioxidante (FRAP, ABTS e DPPH) dos extratos de castanha e casca de sapucaia. Os FT do extrato de castanha foram significativamente ($p < 0,05$) maior na amostra B1. Essa diferença pode estar relacionada a fatores ambientais e agrônômicos que desempenham papéis importantes na composição fenólica (JOHN; SHAHIDI, 2010). Estudos sobre compostos fenólicos na castanha de sapucaia ainda são escassos. Teixeira *et al.* (2018) relataram valores de FT de 1,59 e 1,25 mg GAE 100 g^{-1} para o óleo de castanha de sapucaia extraído por Bligh & Dyer e por Soxhlet, respectivamente. Os FT no extrato de casca de sapucaia foi significativamente ($p < 0,05$) maior na amostra A1. Esses resultados foram superiores aos relatados por Ferreira *et al.* (2014) para extrato etanólico de casca de sapucaia (0,88 mg GAE g^{-1}).

Tabela 3.4: Compostos fenólicos totais (FT), capacidade antioxidante (FRAP, ABTS e DPPH) e taninos condensados (TC) em extratos de castanha e casca de sapucaia (peso seco).

Amostras	FT (mg GAE g ⁻¹)	TC (mg CE g ⁻¹)	Atividade antioxidante		
			FRAP (μmol TEAC g ⁻¹)	ABTS (μmol TEAC g ⁻¹)	DPPH (μmol TEAC g ⁻¹)
<i>Castanha</i>					
A1	34,02 ± 0,37 ^b	-	19,38 ± 1,04 ^a	48,13 ± 0,27 ^a	Nd
A2	29,03 ± 0,19 ^b	-	15,82 ± 0,78 ^b	34,15 ± 0,18 ^d	Nd
A3	34,52 ± 0,76 ^b	-	15,82 ± 1,76 ^b	39,28 ± 0,43 ^c	Nd
B1	41,34 ± 0,25 ^a	-	18,35 ± 0,58 ^{ab}	41,34 ± 0,25 ^b	Nd
<i>Casca</i>					
A1	377,64 ± 1,32 ^a	123,81 ± 1,74 ^a	1365,2 ± 3,35 ^a	196,91 ± 0,17 ^a	140,88 ± 1,19 ^a
A2	347,89 ± 1,91 ^b	91,99 ± 1,59 ^d	1369,8 ± 2,09 ^a	196,12 ± 0,78 ^a	139,11 ± 2,32 ^a
A3	349,86 ± 1,56 ^b	105,28 ± 0,48 ^c	1362,5 ± 3,19 ^a	197,70 ± 0,17 ^a	140,03 ± 1,01 ^a
B1	350,35 ± 0,53 ^b	115,66 ± 0,18 ^b	975,9 ± 2,53 ^b	193,45 ± 0,89 ^b	135,14 ± 0,83 ^b

A1, A2, A3: amostras do Piauí. B1: amostras de Minas Gerais. Média ± DP (n = 3) Nd: não determinado. -: não detectado. As mesmas letras na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey, p <0,05) para cada extrato. TC: taninos condensados. FT: fenólicos totais. GAE: equivalente de ácido gálico. TEAC: capacidade antioxidante equivalente em Trolox. CE: equivalente de catequina.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018b).

Os resultados mostraram alto teor de taninos condensados na casca da sapucaia. Os taninos são encontrados principalmente na casca de frutos e sementes, onde desempenham um papel importante no sistema de defesa da castanha, protegendo-a de danos oxidativos (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Diferentes métodos têm sido utilizados para avaliar a capacidade antioxidante em alimentos e os princípios e as condições experimentais diferem entre os estudos publicados (MA *et al.*, 2011; FLOEGEL *et al.*, 2011). Por outro lado, os antioxidantes podem apresentar diferentes mecanismos de ação. Portanto, é necessário mais de um ensaio para determinar com precisão a capacidade antioxidante em uma matriz ou sistema complexo.

O mecanismo de reação envolvido no ensaio FRAP baseia-se na redução do complexo férrico (Fe^{3+}) para o complexo ferroso (Fe^{2+}) sob condições de pH ácido (pH 3,6) (SHAHIDI; ZHONG, 2015). A capacidade dos extratos de castanha de sapucaia reduzirem Fe^{3+} para Fe^{2+} no ensaio FRAP foi significativa ($p < 0,05$) maior nas amostras A1 e B1. Ainda, a maior capacidade antioxidante para o extrato de casca de sapucaia foi observada no ensaio FRAP (975,9 a 1369,8 $\mu\text{mol TEACg}^{-1}$) e foi significativamente maior ($p < 0,05$) nas amostras A1, A2 e A3 quando comparada à amostra B1.

O ensaio ABTS baseia-se na neutralização dos radicais ABTS através de doação de elétrons ou doação de átomos de hidrogênio a partir dos compostos antioxidantes. Este ensaio determina a capacidade dos antioxidantes sequestrarem o radical estável ABTS^{++} , que é um cromóforo azul esverdeado (FLOEGEL *et al.*, 2011; SHAHIDI; ZHONG 2015). A maior capacidade antioxidante ($p < 0,05$) para o extrato de castanha de sapucaia foi observada no ensaio ABTS para a amostra A1. Para os extratos de casca, as diferenças foram significativamente maiores ($p < 0,05$) nas amostras A1, A2 e A3.

O ensaio de DPPH baseia-se na doação de elétrons para neutralizar o radical DPPH, que é formando uma mudança de cor do púrpura para o amarelo. Esta metodologia é considerada fácil e rápida para avaliar a atividade antioxidante (HAMINIUK *et al.*, 2011). No extrato de casca de sapucaia, a atividade antioxidante determinada pelo DPPH variou de 135,14 a 140,88 $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ e foi significativamente maior ($p < 0,05$) para as amostras A1, A2 e A3 quando comparada à amostra B1.

Além disso, a correlação entre FT, TC, FRAP, ABTS, DPPH e compostos fenólicos individuais em extratos de castanhas e casca de sapucaia é mostrada na Tabela 3.5.

Tabela 3.5: Correlação entre capacidade antioxidante e compostos fenólicos na castanha e casca de sapucaia.

Parâmetros	FT	FRAP	ABTS	DPPH
<i>Castanha</i>				
FRAP	0,261	-	-	-
ABTS	- 0,185	0,766*	-	-
Catequina	- 0,084	0,746*	0,896*	-
Ácido elágico	-0,246	0,632**	0,854*	-
Epicatequina	-0,178	0,665**	0,846*	-
Ácido ferúlico	0,628**	0,173	-0,136	-
Miricetrina	0,178	0,828*	0,891*	-
Ácido Vanílico	0,544	-0,229	-0,359	-
<i>Casca</i>				
FRAP	0,764*	-	-	-
ABTS	0,886*	0,912*	-	-
DPPH	0,482	0,225	0,229	-
TC	0,376	0,132	-0,151	0,123
Aromadendrina	0,660**	-0,358	-0,557	0,110
Catequina	-0,014	0,609**	0,323	-0,265
Ácido elágico	0,559	-0,246	-0,479	-0,226
Epicatequina	-0,081	0,315	0,243	-0,091
Epigallocatequina	-0,056	0,266	0,087	0,635**
Ácido ferúlico	-0,391	0,753*	0,603**	0,068
Ácido gálico	0,207	-0,348	-0,398	0,653**
Campferol	0,565	-0,142	-0,369	0,086
Miricetrina	0,877*	-0,557	-0,655**	-0,376
Ácido Protocatecuico	0,683**	-0,652**	-0,819*	0,117
Taxifolina	0,407	-0,432	-0,484	0,479
Ácido Vanílico	-0,184	0,293	0,239	-0,045
Vanilina	-0,652**	0,543	0,654**	-0,104

*p <0,01. ** p <0,05. FT: Fenólicos totais. TC: taninos condensados.

Fonte: Adaptado de Demoliner *et al.* (2018b).

Uma correlação positiva e significativa entre compostos fenólicos individuais e capacidade antioxidante sugere que esses compostos fenólicos foram associados à capacidade antioxidante avaliada por esses métodos (FRAP, ABTS e DPPH). Os compostos fenólicos são conhecidos por terem fortes efeitos antioxidantes *in vitro* e *in vivo*, pois são agentes redutores e podem doar hidrogênio ou elétrons aos radicais livres (GRANATO *et al.*, 2016). A atividade também está relacionada com o número de hidroxilas presentes, pois quanto maior o número, maior a atividade antioxidante (GRANATO; KATAYAMA; CASTRO, 2011). Por exemplo, a miricetrina é um flavonol que apresenta 6 grupos hidroxila contendo dupla ligação 2,3 no anel C e

apresentando função 4-oxo. Essa estrutura aumenta a atividade antioxidante total da miricetrina em relação aos radicais livres (GRANATO; KATAYAMA; CASTRO, 2011). A atividade antioxidante dos ácidos fenólicos também depende do número de grupos hidroxila e, ainda, da presença de grupos metoxi. O ácido gálico possui 3 grupos hidroxila em sua estrutura, os quais estão relacionados a uma forte atividade antioxidante, devido ao poder nucleofílico. O ácido ferúlico possui um grupo hidroxila e um grupo metoxi, além de ser eficaz na eliminação de radicais livres (GRANATO; KATAYAMA; CASTRO, 2011).

4. CONCLUSÃO

Um grande número de compostos fenólicos foi identificado na castanha e na casca da sapucaia (14 e 22, respectivamente). Catequina, epicatequina, miricetina, ácido elágico e ácido ferúlico da castanha de sapucaia apresentaram correlação significativa com a atividade antioxidante. No geral, os extratos de casca de sapucaia apresentaram maior concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante quando comparados aos extratos de castanha. Os resultados indicaram que a alta capacidade antioxidante encontrada na castanha e casca de sapucaia é baseada em seu alto teor de compostos fenólicos.

O perfil fenólico e a alta capacidade antioxidante na castanha e casca de sapucaia indicam que esta matéria-prima subutilizada pode ser uma boa fonte de compostos fenólicos naturais na dieta, além de ser utilizada como ingrediente na formulação de diferentes produtos alimentares saudáveis.

REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**.v. 17, p. 114-140, 2007.

ALASALVAR, C.; BOLLING, B.W.Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. **The British Journal of Nutrition**.V. 113, p. 68-78, 2015.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**.v. 15, p. 655–665, 2002.

BENZIE, I.F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**.v. 239, p. 70-76, 1996.

BETTAIEB, A.; PRIETO, M.A.V.; LANZI, C.R.; MIATELLO, R.M.; HAJ, F.G.; FRAGA, C. G.; OTEIZA, P.I. (–)-Epicatechin mitigates high-fructose-associated insulin resistance by modulating redox signaling and endoplasmic reticulum stress. **Free Radical Biology and Medicine**.v. 72, p. 247-256, 2014.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, A. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**.v. 28, p. 25–30, 1995.

BRANDÃO, M. S.; PEREIRA, S. S.; LIMA, D. F.; OLIVEIRA, J. P. C.; FERREIRA, E. L. F.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F.R.C. Antinociceptive effect of *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) in models of acute pain in mice. **Journal of Ethnopharmacology**.v. 146, p. 180-186, 2013.

BUSTO, R.; SERNA, J.; PARIANES-CACHERO, A.; QUINTANA-PORTILLO, R.; GARCÍA-SEISDEDOS, D.; CANFRÁN-DUQUE, A.; PAINO, C. L.; LERMA, M.; CASADO, M.; MARTÍN-HIDALGO, A.; ARILLA-FERREIRO, E.; LASUNCIÓN, M.A.; PASTOR, O.Ellagic acid protects from myelin-associated sphingolipid loss in experimental

autoimmune encephalomyelitis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**.V. 1863, p. 958-967, 2018.

CHANDRASEKARA, N.; SHAHIDI, F. Effect of roasting on phenolic content and their antioxidant activities of cashew kernels and testa. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.v. 59, p. 5006-5014, 2011a.

CHANDRASEKARA, N.; SHAHIDI, F. Antioxidative potential of cashew phenolics in food and biological model systems as affected by roasting. **Food Chemistry**.v. 129, p. 1388-1396, 2011b.

CHEN, L.Y.; CHENG, C. W.; LIANG, J. Y. Effect of esterification condensation on the Folin–Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. **Food Chemistry**.v. 170, p. 10-15, 2015.

CROFT, K.D.; YAMASHITA, Y.; O'DONOGHUE, H.; SHIRASAYA, D.; WARD, N.C.; ASHIDA, H. Screening plant derived dietary phenolic compounds for bioactivity related to cardiovascular disease. **Fitoterapia**.v. 126, p. 22-28, 2018.

DEMOLINER, F.; POLICARPIA, P. B.; RAMOS, J. C.; BASCUÑAN, V.L.A. F.; FERRARI, R. A.; JACHMANIÁND, I.; CASAS, A. F. VASCONCELOS, L.F. L.; BLOCK, J.M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**.v. 108, p. 27–34, 2018a.

FERREIRA, E. L. F.; MASCARENHAS, T. S.; OLIVEIRA, J. P. C.; CHAVES, M. H.; ARAÚJO, B. Q.; CARVALHO, A. J. Phytochemical investigation and antioxidant activity of extracts of *Lecythis pisonis* Camb. **Journal of Medicinal Plants Research**.v. 8, p. 353-360, 2014.

FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Use and diversity of medicinal plants at the “Quilombo Olho D’água dos Pires”, Esperantina, Piauí State, Brazil. **Revista Brasileira de Medicina**.v. 8, p. 78-88, 2006.

FLOEGEL, A.; KIM, D. O.; CHUNG, S. J.; KOO, S. I.; CHUN, O.K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**.v. 24, p. 1043-1048, 2011.

GOMES, S.; TORRES, A.G. Optimized extraction of polyphenolic antioxidant compounds from Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) cake and evaluation of the polyphenol profile by HPLC. **Journal of the Science of Food and Agriculture**.v. 96, p. 2805-2814, 2016.

GRANATO, D.; KATAYAMA, F. C. V.; CASTRO, I. A. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. **Food Chemistry**.v. 129, p. 366-373, 2011.

GRANATO, D.; SANTOS, J. S.; MACIEL, L.G.; NUNES, D.S. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 80, p. 266-279, 2016.

GRASSI, D.; LIPPI, C.; NECOZIONE, S.; DESIDERI, G.; FERRI, C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. **The American Journal of Clinical Nutrition**.v. 81, p. 611-614, 2005.

GRASSI, D.; DESIDERI, G.; NECOZIONE, S.; LIPPI, C.; CASALE, R.; PROPERZI, G.; BLUMBERG, J. B.; FERRI, C. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. **Journal of Nutrition**.v. 138, p. 1671-1676, 2008.

HAMINIUK, C. W. I.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; GUEDES, A. R.; STAFUSSA, A. P.; BONA, E.; CARPES, S. T. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science and Technology**.v. 46, p. 1529-1537, 2011.

HILBIG, J.; ALVES, R. V.; MULLER, C.M. O.; MICKE, G. A.; VITALI, L.; PEDROSA, R. C.; BLOCK, J.M. Ultrasonic-assisted extraction combined with sample preparation and analysis using LC-ESI-MS/MS allowed the identification of 24 new phenolic compounds in pecan nut shell [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] extracts. **Food Research International**.v. 106, p. 549-557, 2018a.

HILBIG, J.; POLICARPI, P. B.; DE SOUZA GRINEVICIUS, V. W. A.; SANTOS MOTA, N. S. R.; TOALDO, I. M.; LUIZ, M. T. B.; PEDROSA, R. C.; BLOCK, J. M. Aqueous extract from Pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell show activity against breast cancer cell line MCF-7 and Ehrlich ascites tumor in Balb-C mice. **Journal of Ethnopharmacology**.V. 211, p. 256-266, 2018b.

ITOH, A.; ISODA, K.; KONDOH, M.; KAWASE, M.; KOBAYASHI, M.; TAMESADA, M.; YAGI, K. Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin a-induced liver injury. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**.v. 32, p. 1215-1219, 2009.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 137-147, 2007.

JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**.v. 2, p. 196-209, 2010.

KALIORA, A. C.; KOGIANNOU, D. A.; PAPASSIDERI, I. S.; KALOGEROPOULOS, N. Phenolic profiles and antioxidant and anticarcinogenic activities of Greek herbal infusions; balancing delight and chemoprevention?. **Food Chemistry**.v. 142, p. 233-241, 2014.

KIM, S. J.; KIM, M. C.; UM, J. Y.; HONG, S. H. The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative colitis. **Molecules**.v. 15, p. 7208-7217, 2010.

LARROSA, M.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; ESPIN, J.C. The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, p. 611-625, 2006.

LEMONS, M.R. B.; SIQUEIRA, E.M. A.; ARRUDA, S. F.; ZAMBIAZI, R.C. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]. **Food Research International**.v. 48, p. 592-597, 2012.

LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E. S. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**.v. 6, p. 709-719, 2016.

MA, X.; WU, H.; LIU, L.; YAO, Q.; WANG, S.; ZHAN, R.; XING, S.; ZHOU, Y. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. **Science Horticulturae**.v. 129, p. 102-107, 2011.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**.v. 15, p. 127–130, 2011.

NORATA, G. D.; MARCHESI, P.; PASSAMONTI, S.; PIRILLO, A.; VIOLI, F.; CATAPANO, A. L. Anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of catechin, caffeic acid and trans-resveratrol in apolipoprotein E deficient mice. **Atherosclerosis**.v. 191, p. 265-271, 2007.

PRADO, A. C. P.; ARAGÃO, A. M.; FETT, R.; BLOCK, J. M. Phenolic compounds and antioxidant activity of pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) C . Koch] shell extracts. **Brazilian Journal of Food Technology**.v. 12, p. 323–332, 2009.

PRICE, M. L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.v. 26, p. 1214 – 1218, 1978.

PRINCE, P.S. M.; RAJAKUMAR, S.; DHANASEKAR, K. Protective effects of vanillic acid on electrocardiogram, lipid peroxidation, antioxidants, proinflammatory markers and histopathology in isoproterenol induced cardiotoxic rats. **European Journal of Pharmacology**.v. 668, p. 233-240, 2011.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**.V. 26, p. 1231–1237, 1999.

RIBEIRO, P.C.E.; POLICARPI, P.; DAL BO, A.; BARBETTA, P. A.; BLOCK, J.M. Impact of pecan nut shell aqueous extract on the oxidative properties of margarines during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**.v. 97, p. 3005-3012, 2017.

ROBBINS, K. S.; GONG, Y.; WELLS, M. L.; GREENSPAN, P.; PEGG, R.B. Reprint of “Investigation of the antioxidant capacity and phenolic constituents of U.S. pecans”. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 1002-1013, 2015.

ROSILLO, M. A.; SÁNCHEZ-HIDALGO, M.; CÁRDENO, A.; APARICIO-SOTO, M.; SÁNCHEZ-FIDALGO, S.; VILLEGAS, I.; DE LA LASTRA, C. A. Dietary supplementation of an ellagic acid-enriched pomegranate extract attenuates chronic colonic inflammation in rats. **Pharmacological Research**.v. 66, p. 235-242, 2012.

SILVA, L. L.; GOMES, B. S.; SOUSA-NETO, B.P.; OLIVEIRA, J.P. C.; FERREIRA, E.L. F.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F.A. Effects of *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) in a mouse model of pruritus. **Journal of Ethnopharmacology**.v. 139, p. 90-97, 2012.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**.v. 16, p. 144-158, 1965.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**.v. 18, p. 820-897, 2015.

SCHULZ, M.; BORGES, G. S. C. B.; GONZAGA, L. V.; SERAGLIO, S. K. T. S.; OLIVO, I. S.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GOIS, J. S.; ALMEIDA, T. S.; VITALI, L.; SPUDEIT, D. A.; MICKE, G. A.; BORGES, D. L. G.; FETT, R. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpeedulis Martius*) during ripening. **Food Research International**.v. 77, p. 125–131, 2015.

SUZUKI-SUGIHARA, N.; KISHIMOTO, Y.; SAITA, E.; TAGUCHI, C.; KOBAYASHI, M.; ICHITANI, M.; UKAWA, Y.; SAGESAKA, Y.M.; SUZUKI, E.; KONDO, K. Green tea catechins prevent low-density lipoprotein oxidation via their accumulation in low-density

lipoprotein particles in humans. **Nutrition Research**.v. 36, p. 16-23, 2016.

TAŞ, N.G.; GÖKMEN, V. Phenolic compounds in natural and roasted nuts and their skins: a brief review. **Current Opinion in Food Science**.v. 14, p. 103-109, 2017.

TEIXEIRA, G. L.; ÁVILA, S.; SILVEIRA, J. L. M.; RIBANI, M.; RIBANI, R. H. Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**.v. 131,p. 2105-2121, 2018.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S.; CAMPOS, N. C.; MOITA NETO, J. M. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: Oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**.v. 66, p. 197-200, 1999.

VILLARREAL-LOZOYA, J. E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**.V. 102, p.1241-1249, 2007.

WICKENS, G.E. **Edible nuts**. Roma: FAO. (Non wood forest products, 5). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, p. 69-71, 1995.

**CAPÍTULO 4—PRODUÇÃO DO EXTRATO HIDROSSOLÚVEL
DA TORTA DE CASTANHA DE SAPUCAIA E APLICAÇÃO DO
PROCESSO DE CRIOCONCENTRAÇÃO EM BLOCO**

RESUMO

A tecnologia de crioconcentração em bloco produz concentrados de alta qualidade que retêm componentes nutricionais valiosos encontrados no extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia. O objetivo deste trabalho foi produzir o extrato hidrossolúvel da torta de castanha sapucaia e avaliar o potencial da crioconcentração em bloco no aumento dos compostos nutricionais e fitoquímicos. Cinco estágios de concentração de congelamento foram estudados. No geral, em relação à composição dos concentrados observou-se que os teores de sólidos totais, proteínas, cinzas, carboidratos e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) aumentaram com os estágios de crioconcentração. No entanto, esses componentes também permaneceram elevados nas frações de gelo até o terceiro estágio do processo de crioconcentração. Por outro lado, para o teor de lipídios, observou-se um decréscimo em C1, C2 e C3 em relação ao extrato inicial ($p < 0,05$). No quinto estágio de congelamento, o lipídio aumentou significativamente ($p < 0,05$). O efeito dos estágios de crioconcentração foi altamente significativo ($p < 0,05$) para fenólicos totais e para o potencial antioxidante medido pelo ensaio ABTS nas frações C3, C4 e C5. No entanto, a atividade antioxidante determinada pelo ensaio FRAP aumentou significativamente ($p < 0,05$) para todos os cinco concentrados. Os compostos fenólicos isolados detectados por LC-ESI-MS/MS, tais como os ácidos gálico, vanílico, ferúlico, sinápico e salicílico, catequina, taxifolina e sinapaldeído, aumentaram substancialmente em todos os estágios de crioconcentração. Além disso, a alta atividade antioxidante das frações concentradas do extrato hidrossolúvel da torta de sapucaia está correlacionada com o perfil de compostos fenólicos. A tecnologia de crioconcentração foi utilizada para o aproveitamento da torta de castanha de sapucaia e sua valorização como ingrediente promissor na indústria de alimentos. Essa tecnologia pode oferecer uma alternativa atraente para a indústria de alimentos, pois não envolve aquecimento e tem um grande potencial para produzir uma solução altamente concentrada. Portanto, a concentração de congelamento pode ser considerada uma boa alternativa para melhorar os compostos nutricionais e fitoquímicos do extrato hidrossolúvel da torta de sapucaia.

Palavras-chave: Crioconcentração. Concentração de congelamento em bloco. Torta de prensagem da sapucaia. Subproduto. LC-ESI-MS/MS. ICP-MS.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com características geográficas e climáticas favoráveis para a produção de frutas e castanhas. No entanto, um grande número de espécies nativas permanece inexplorado, apesar de seu alto potencial nutricional e econômico. Nesse contexto, *Lecythis pisonis* Cambess, também conhecida como sapucaia, pertence à família Lecythidaceae e está presente na maioria das regiões do Brasil (VALLILO *et al.*, 1999). A castanha e a torta de sapucaia apresentam uma excelente fonte de proteínas, ácidos graxos essenciais, minerais, fibras alimentares, tocoferóis, fitoesteróis, compostos fenólicos e alta atividade antioxidante, como já descritos no capítulo 2 e 3 deste trabalho (DEMOLINER *et al.*, 2018a; DEMOLINER *et al.*, 2018b). Esses atributos tornam a castanha de sapucaia uma fonte potencial para o desenvolvimento de produtos inovadores e saudáveis.

A torta de castanha ou farinha são subprodutos resultantes da extração de óleo da castanha. São ingredientes usados na indústria de alimentos em diversos produtos como pão, salgadinhos, biscoitos e barras de cereais, pois apresentam propriedades nutricionais e de sabor favorável (DEMIRKESEN, *et al.* 2010; SINGH *et al.*, 2011; MIR; BOSCO; SHAH, 2017). As propriedades nutricionais da torta de sapucaia mostram que este subproduto pode ser utilizado no desenvolvimento de um extrato hidrossolúvel e ainda, para agregar maior valor nutricional, pode-se aplicar um processo de concentração. A torta de sapucaia apresenta um alto potencial industrial, como rica fonte de proteína, fibra alimentar, carboidratos e é uma excelente fonte de selênio. Além disso, exibem um menor teor de lipídios. O conteúdo lipídico remanescente na torta de sapucaia é um fator positivo, carregando características benéficas de seus ácidos graxos, γ -tocopherol e β -sitosterol (DEMOLINER *et al.*, 2018a). No entanto, fatores ambientais envolvidos no processamento de alimentos, como altas temperaturas, exposição ao oxigênio e à luz, poderiam acelerar a degradação de compostos bioativos, causando um declínio nos seus componentes nutricionais. Portanto, é essencial encontrar um processo alternativo potencial para proteger, estabilizar e reter esses compostos bioativos essenciais. Nesse sentido, a crioconcentração (também chamada de concentração de congelamento) é uma tecnologia interessante e ecologicamente correta, capaz de minimizar a perda de componentes valiosos em líquidos alimentares que precisam ser concentrados.

O desenvolvimento do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) e sua submissão ao processo de criocentralização poderá ser uma tecnologia útil na proteção de compostos bioativos, produzindo um produto concentrado com alto valor nutricional. Yee *et al.* (2003) enfatizaram que, devido às baixas temperaturas utilizadas durante o processo de criocentralização, a atividade enzimática e a degradação química são minimizadas com perda reduzida de compostos voláteis e nutricionais da matéria-prima. A vantagem da criocentralização é porque as reações químicas e bioquímicas, responsáveis pela deterioração da qualidade do produto, são muito lentas em baixas temperaturas. Também foi relatado que, a partir de subprodutos vegetais, o procedimento de criocentralização permite desenvolver novos produtos com propriedades essenciais (AIDER; DE HALLEUX; AKBACHE, 2007).

Entre os processos de criocentralização tem-se a criocentralização em bloco. A base da concentração de congelamento em blocos é a seguinte: uma solução de alimento líquido é completamente congelada, toda a solução congelada é descongelada, e então a fração de concentrado é separada da fração de gelo por descongelamento gravitacional. Nestas condições, o bloco de gelo atua como uma carcaça sólida através da qual a fração de concentrado passa (PETZOLD *et al.*, 2015). As inovações na criocentralização têm sido mais focadas em sistemas de estágio único, como a criocentralização em bloco, uma vez que isso é caracterizado por procedimentos, construção e operação de equipamentos mais simples (ORELLANA-PALMA *et al.*, 2017). A aplicação do processo de criocentralização em blocos para obter concentrados de extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia ainda não foi relatada na literatura. Esta abordagem fornece os primeiros dados para avaliar o potencial da criocentralização em bloco para concentrar nutrientes e compostos bioativos do EHS para outras aplicações como um ingrediente funcional e saudável em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos. Portanto, este trabalho teve como objetivo produzir um extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia, avaliando o potencial de criocentralização em blocos no aumento dos compostos nutricionais e fitoquímicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

As castanhas de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) foram coletadas em Teresina, Piauí (Latitude 05°05'21"S e Longitude 42°48'07"W), e fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Meio-Norte). Cerca de 3 kg da amostra foram obtidos. As amostras foram colhidas em outubro de 2017.

2.2. Reagentes químicos

Os padrões e soluções de estoque dos elementos Rh, Ca, Mg, Mn, Zn, Se, Na, Cu, Ni, Al, Pb, Sn, Cr, Mo e Cd foram obtidas da Specsol (São Paulo, Brasil). Reagente Folin-Ciocalteu, ácido gálico, vanilina, (+)-catequina hidratada, ABTS [ácido 2,2-azino-bis- (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)], 2,2'- 2,4, 6-tripiridiltriazina (TPTZ) e Trolox foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os 49 padrões fenólicos ultra-puros foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Solução estoque dos padrões de fenólicos (1000 mg L⁻¹ em metanol a 100%) foram preparadas e armazenadas em freezer (-20 °C) e utilizadas para preparar as curvas de calibração utilizando a diluição adequada da mistura. O metanol (grau HPLC) foi obtido da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, EUA). Todos os outros reagentes químicos e solventes utilizados no experimento foram de grau analítico (P.A.) obtidos da Vetec Fine Chemicals (Xerem, Brasil) e Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, EUA).

2.3. Obtenção da torta de prensagem da castanha sapucaia e do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS)

As castanhas de sapucaia foram prensadas por meio de prensa hidráulica TE-098 Tecnal[®] (São Paulo, Brasil) para retirada do óleo e obtenção da torta. A torta de sapucaia resultante, contendo 6,33% ± 0,02 de umidade, 32,24% ± 0,98 de proteína, 33,12% ± 0,01 de lipídio, 20,97% ± 0,97 de carboidratos e 7,34% ± 0,01 de cinzas foi utilizada para a preparação do EHS.

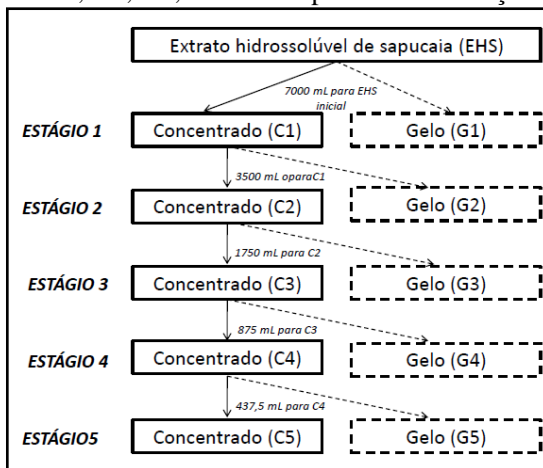
O EHS foi elaborado segundo Gul *et al.*, (2017) com modificações. A torta foi triturada usando um triturador de aço inoxidável LQI-15 Vitalex[®] (São Paulo, Brasil) por 10 min. A amostra triturada foi misturada com água destilada na proporção de 1: 6 [torta de

sapucaia (g): água (mL)] e a homogeneização foi realizado com o homogeneizador Ultra-Turrax T25 Digital S32 IKA[®] (São Paulo, Brasil) a 10.000 rpm por 10 min. O EHS foi filtrado e armazenado a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posteriores análises.

2.4. Crioconcentração

O método de concentração utilizado para o EHS foi acriconcentração em bloco, de acordo com o processo descrito por Boaventura et al. (2013). Este método é baseado no congelamento total do EHS seguido de um descongelamento parcial (separação gravitacional), resultando em duas frações: o fluido concentrado (C) e o gelo (G). Primeiramente, 7 L do EHS (inicial) foram fracionados em recipientes plásticos de 250 mL e depois congelados a $-24 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uma vez que o EHS foi congelado, 50% do volume inicial foi descongelado em temperatura controlada ($20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). O líquido total descongelado obtido foi denominado de fluido concentrado do primeiro estágio de crioconcentração (C1). O C1 foi congelado a $-24 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e utilizado como solução para o segundo estágio. Este procedimento foi repetido no terceiro, quarto e quinto estágios de crioconcentração. O EHS inicial, os gelos (G1, G2, G3, G4 e G5) resultantes de cada estágio de concentração de congelamento e os fluidos concentrados de cada estágio de crioconcentração (C1, C2, C3, C4 e C5) foram armazenados a $-24 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posteriores análises. Na Figura 4.1 é apresentado o fluxograma do processo de crioconcentração em blocos.

Figura 4.1: Fluxograma do processo de crioconcentração em bloco onde o EHS representa o volume inicial do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia, C1, C2, C3, C4 e C5 representa as frações concentradas e G1, G2, G3, G4 e G5 representam as frações de gelo.



Fonte: Próprio Autor.

Para realização das etapas de crioconcentração em bloco, foi utilizado um funil com a parte superior coberta por uma tela, que funcionou como um suporte para os cubos de gelo, com o objetivo de manter um descongelamento padrão. Abaixo do funil um béquer para a coleta da amostra concentrada (Figura 4.2).

Figura 4.2: (A) Aparato para a realização de crioconcentração. (B) Amostras do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS), concentrados (C1, C2, C3, C4, C5) e gelo (G1, G2, G3, G4, G5).



Fonte: Próprio Autor.

2.5. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas do EHS inicial, do fluido concentrado (C1, C2, C3, C4 e C5) e do gelo (G1, G2, G3, G4 e G5) foram determinadas seguindo os métodos recomendados pela AOAC, 2005, sendo eles: teor de sólidos totais ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) determinado pela secagem das amostras até peso constante a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ sob condição de vácuo por 24 h; teor de proteína bruta ($\text{N} \times 6,25$) estimado pelo método macro-Kjeldahl; o teor de cinzas ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) por incineração a $550 \pm 15 \text{ }^\circ\text{C}$; carboidratos totais ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) determinado por diferença; e valor energético total (kcal g^{-1}) foi calculado a partir dos fatores de conversão, que foram iguais a 4 kcal g^{-1} , 9 kcal g^{-1} e 4 kcal g^{-1} para os teores de proteína, lipídios e carboidratos, respectivamente. Os teores de lipídios totais ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) e acidez titulável ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de ácido láctico) foram determinados pelas metodologias do Instituto Adolfo Lutz (IAL) (IAL, 2008). A determinação do pH foi medida em pHmetro (PHS-3 BW, BEL, Piracicaba, Brasil), enquanto os sólidos solúveis ($^\circ\text{Brix}$) foram obtidos do refratômetro Mettler Toledo (Quick-Brix 90, São Paulo, Brasil), com temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Todas essas análises foram feitas em triplicata.

2.5.1 Conteúdo mineral

O conteúdo mineral do EHS inicial, do fluido concentrado (C1, C2, C3, C4 e C5) e do gelo (G1, G2, G3, G4 e G5) foi realizado utilizando espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), para os elementos selênio, cálcio, magnésio, manganês, zinco, cobre, cromo, níquel, molibdênio, sódio, alumínio, cádmio, estanho e chumbo. Foram digeridas 1g da amostra em forno microondas MLS-1200 Milestone (Soriso, Itália), com 6mL de HNO_3 e 1mL de H_2O_2 , com a potência aplicada variando de 250 a 600W por 25min em vasos fechados de poli-tetrafluoretileno (PTFE). As amostras digeridas foram diluídas apropriadamente com água deionizada e $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de ródio foi utilizado como padrão interno para a quantificação dos analitos. A calibração externa foi realizada utilizando soluções aquosas preparadas a partir de uma solução-padrão de multi-elementos contendo todos os analitos. As análises por ICP-MS foram realizadas utilizando um Perkin Elmer SCIEX, modelo NexIon 300D (Shelton, EUA). As condições instrumentais foram: amostragem/cones skimmer: platina; RFpower: 1100W; medição de sinal: contínua; lente auto: ligado; tensão do detector: pulso (1250v) e analógico (-2290v); taxa de fluxo de gás:

principal (15,0L min⁻¹) e nebulizador (1,05L min⁻¹). Os dados sobre limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e coeficientes de determinação (R²) de cada mineral estão descritos na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Limites de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e coeficientes de determinação (R²) utilizados para cada um dos elementos estudados.

Elementos	LOD (µg g ⁻¹)	LOQ (µg g ⁻¹)	Equação da curva	Coefficiente de determinação (R ²)
Ca	2,46	7,38	y = 100,1x - 3482,1	0,9999
Mg	0,01	0,04	y = 2513,1x + 12996,2	0,9996
Se	0,03	0,10	y = 224,5x + 521,2	0,9999
Mn	1,32	3,98	y = 3771,5x - 77234,6	0,9993
Zn	0,01	0,04	y = 879,2x + 5488,3	0,9991
Cu	0,01	0,03	y = 2926,5x + 9969,4	0,9999
Cr	0,01	0,04	y = 398,6x + 2305,9	0,9991
Ni	0,02	0,05	y = 1265,1x + 7593,3	0,9997
Na	0,06	0,17	y = 4228,6x - 11616,5	0,9997
Mo	0,01	0,01	y = 3660,4x - 2802,2	0,9998
Al	0,10	0,30	y = 3225,1x + 19370,5	0,9997
Cd	0,01	0,01	y = 1532,1x + 8818,6	0,9991
Pb	0,01	0,01	y = 14167,7x - 8803,3	0,9988
Sn	0,71	2,13	y = 4402,8x + 1380,3	0,9994

2.6. Densidade

A densidade do EHS, concentrados (C1, C2, C3, C4, C5) e gelo (G1, G2, G3, G4, G5) foi determinada pela metodologia oficial da AOAC (2005). Utilizou-se um picnômetro de vidro (picnômetro de Gay-Lussac), previamente equilibrado com peso constante a 25 °C. A densidade (g /cm³) foi realizada em triplicado e calculada pela seguinte Equação (1):

$$\rho_s = \frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1) \times \rho_{H_2O}} \quad (1)$$

Onde ρ_s é a densidade do EHS, concentrados ou gelos (g /cm³); m_1 é a massa do picnômetro vazio (g); m_2 é a massa do picnômetro com água

(g); m_3 é a massa do picnômetro com EHS, concentrados ou gelos (g) e ρ_{H_2O} é a densidade da água.

2.7. Análise de cor

A análise de cor do EHS, concentrados (C1, C2, C3, C4, C5) e gelo (G1, G2, G3, G4, G5) foi determinada em triplicata com um colorímetro Minolta Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta, Osaka, Japão), ajustada para operar com relâmpagos D65 e 2° de ângulo de observação. O colorímetro foi calibrado com uma placa padrão branca e para medir os parâmetros L^* , b^* e a^* foi utilizada a escala de cores CIE Lab. O parâmetro L^* varia de 0 a 100 e indica luminosidade (variação de preto para branco), o eixo b^* é a variação de amarelo (+ b^*) a azul (- b^*) e o eixo a^* mostra a variação do vermelho (+ a^*) para verde (- a^*). O valor do ângulo de matiz (h^*) e Chroma (C^*) foram determinados usando Eq. (2) e Eq. (3) (MASOUD; JAKOBSEN, 2003).

$$h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad \text{Eq. (2)}$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Eq. (3)}$$

2.8. Identificação e quantificação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS

2.8.1. Preparo de amostras

A preparação das amostras do EHS inicial, concentrado (C1, C2, C3, C4 e C5) e gelo (G1, G2, G3, G4 e G5) seguiu o protocolo descrito por Schulz *et al.* (2015). Resumidamente, 1 mL da amostra foi submetido a hidrólise ácida utilizando 5 mL de metanol (grau HPLC) e 5 mL de ácido clorídrico em estufa (modelo 400/D200 °C, New Ethics[®], São Paulo, Brasil) a 85 °C por 30 min. Em seguida, o pH da solução foi ajustado para 2 usando NaOH (6 mol L⁻¹), e realizou-se a extração por partição (três vezes) com 10 mL de éter etílico, seguida de centrifugação a 3000 g por 10 min. Os sobrenadantes foram combinados em um balão de fundo redondo e o solvente foi removido em um evaporador rotatório (modelo 558, Fisatom[®], São Paulo, Brasil) a 40 °C até a secagem. O extrato seco foi ressuspensão em 1 mL de metanol (grau HPLC) e diluído

10 vezes com metanol: água (70:30, v/v) para injeção no sistema LC-ESI-MS/MS.

2.8.2. Condições cromatográficas

A identificação e quantificação de compostos fenólicos foram realizadas utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (LC) (modelo 1200 Series, Agilent Technologies®, Waldbronn, Alemanha), de acordo com o método relatado por Schulz *et al.* (2015). A separação dos analitos foi realizada numa coluna Synergi™ Polar-RP 80 A (tamanho de partícula de 4,0 µm, 150 mm, diâmetro interno de 2,0 mm, Phenomenex, EUA) usando um Cartuchos SecurityGuard Polar-RP 80A (4,0 µm × 2,0 mm, Phenomenex, EUA). As fases móveis foram misturas de metanol a 95% e água a 5% (v/v) (canal A), e água e ácido fórmico a 0,1% (v/v) (canal B). A separação foi realizada a 30 °C, utilizando eluição gradiente segmentada como: 0 - 5 min, 10% A; 5 a 7 min, 90% A; 7 a 10 min, 90% A; 10–17 min, 10% A. Entre as análises, a coluna foi condicionada por 5 min com a proporção da fase móvel inicial. O fluxo de fase móvel foi de 150 µL min⁻¹ e a quantidade de amostra injetada foi de 10 µL.

O sistema LC foi acoplado à espectrometria de massa com analisador triploquadrupolo e ion *trap linear* modelo Q Trap 3200 (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá). O espectro de massa foi operado em modo de ionização negativa de *electrospray TurboIonSpray*™ (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá). Os parâmetros MS/MS foram: agulha capilar, mantida a -4500 V; gás de cortina, 10 psi; temperatura, 400 °C; gás 1, 45 psi; gás 2, 45 psi; gás CAD, médio. Outros parâmetros para: DP - Potencial de Desagregação; EP - Potencial de Entrada; CEP - Potencial de Energia de Colisão; CE - Energia de Colisão; CXP – Potencial de saída da célula de colisão. Os 49 padrões de compostos fenólicos testados e os parâmetros da espectrometria de massas estão descritos no ANEXO A. O *software Analyst* versão 1.5.1 foi utilizado para o controle do sistema LC-ESI-MS/MS e análise de dados. A identificação dos compostos fenólicos por LC-MS/MS foi realizada comparando os tempos de retenção e os espectros de massa dos picos desconhecidos com os dos padrões. Os resultados de concentração dos compostos fenólicos nas amostras foram expressos em mg g⁻¹ de EHS.

2.9. Determinação do teor de fenólicos totais (FT)

O teor de FT do EHS inicial, concentrados (C1, C2, C3, C4 e C5) e gelo (G1, G2, G3, G4 e G5) foi determinado seguindo o protocolo descrito por Singleton; Rossi (1965) e Prado *et al.* (2009), com modificações. Resumidamente, 0,1 mL da amostra foram misturadas com 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 1,5 mL de carbonato de sódio aquoso (75 g L⁻¹) em frascos volumétricos de 10 mL. Em seguida, o volume foi ajustado para 10 mL pela adição de água deionizada e as amostras foram incubadas por 2 horas à temperatura ambiente e protegidas da luz. A absorbância foi medida em 765 nm com um espectrofotômetro SP 2000 (Bel Photonics[®], Piracicaba, SP, Brasil). Para a quantificação, utilizou-se uma curva padrão de ácido gálico (50-1000mg L⁻¹). A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg GAE g⁻¹) da amostra como média ± desvio padrão.

2.10. Atividade antioxidante (ABTS e FRAP)

A atividade antioxidante do EHS inicial, concentrados (C1, C2, C3, C4 e C5) e gelo (G1, G2, G3, G4 e G5) foram determinadas pelos métodos de ABTS e FRAP.

O ensaio ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)] foi conduzido de acordo com Re *et al.* (1999) com algumas modificações. Primeiro, o radical ABTS⁺ (7 mM - 0,03836 g ABTS dissolvido em 10 mL de água desionizada) foi misturado com 10 mL de solução de persulfato de potássio (2,45 mM - 0,0331 g de persulfato de potássio dissolvido em 25 mL de água desionizada), homogeneizado e armazenado em um frasco âmbar por no mínimo 16 h. O radical ativado de ABTS foi diluído com etanol até uma absorvência de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. Uma alíquota de 20 µl de amostra e 980 µL de solução ABTS ajustada foi adicionada aos tubos de ensaio e mantidos no escuro por 6 minutos. Etanol foi usado para o branco. A absorbância foi lida por um espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics[®], Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 734 nm. Trolox foi usado como padrão. A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em µmol TEAC g⁻¹ de amostra (µmol capacidade antioxidante equivalente em Trolox g⁻¹ da amostra).

O ensaio FRAP foi determinado de acordo com o método descrito por Benzie; Strain (1996), com algumas modificações (ARNOUS; MAKRIS; KEFALAS, 2002). Resumidamente, 0,2 mL de

amostra e 0,2 mL de FeCl_3 (3 mmol L^{-1} em ácido cítrico 5 mol L^{-1}) foram misturados em tubo de ensaio e mantidos por 30 min em banho-maria a $37 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Em seguida, 3,6 mL de solução de TPTZ ($0,0780 \text{ g}$ diluídos em 250 mL de HCl $0,05 \text{ M}$) foram adicionados e a solução resultante foi misturada. A absorbância foi medida usando um espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics[®], Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 620 nm. A curva padrão Trolox ($20\text{--}1000 \text{ }\mu\text{M}$) foi usada para quantificar os resultados. Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ de amostra (μmol capacidade antioxidante equivalente em Trolox g^{-1} da amostra) e média \pm desvio padrão.

2.11. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão (DP). A distribuição normal e a homocedasticidade dos dados foram avaliadas pelos testes de Brown-Forsythe. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Correlações entre as capacidades antioxidantes e conteúdo fenólico foram feitas utilizando o procedimento de Pearson ($p < 0,05$). A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software Statistica[®] 13.3 (TIBCO, Palo Alto, CA, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Propriedades físico-químicas

A Tabela 4.2e 4.3 mostram a composição físico-química do EHS e de cada concentrado (C1, C2, C3, C4 e C5) e gelo descongelado (G1, G2, G3, G4 e G5) do processo de criocongentração em bloco. Em relaçao à composiçao dos concentrados observou-se que os teores de sólidos totais, proteínas, cinzas, carboidratos e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) aumentaram com os estágios de criocongentração. No entanto, esses compostos também permaneceram elevados nas frações de gelo até o terceiro estágio do processo de criocongentração. O mesmo comportamento foi observado por Robles *et al.* (2016) e Sequera *et al.* (2019) durante os três primeiros estágios da criocongentração de congelamento em bloco no extrato de café. Esses autores afirmaram que durante o resfriamento no primeiro estágio, cristais de água de diferentes tamanhos são formados, fazendo com que muitos sólidos permaneçam aprisionados na fase cristalina. Segundo Sequera *et al.* (2019) o maior teor destes compostos na segunda e terceira fases de criocongentração, pode ser devido ao descongelamento. Neste caso, quando a concentração de sólidos da fase líquida atinge um valor crítico, ocorre a gelificação, provavelmente causada por compostos responsáveis pela formação de junções de rede termicamente reversíveis através de pontes de hidrogênio. Por sua vez, a gelificação durante a fase líquida concentrada pode interferir no processo de recristalização (MORENO *et al.*, 2014; SEQUERA *et al.*, 2019). Portanto, a gelificação pode afetar a recuperação desses compostos do EHS nos três primeiros concentrados, diminuindo a eficiência da criocongentração. Por outro lado, para as frações de gelo do quarto e quinto estágio a retenção desses compostos não foi tão significativa em comparação com suas frações concentradas.

Os EHS concentrados apresentaram maior teor de proteína quando comparado com outros leites vegetais descritos na literatura: para leite de amendoim ($3,71 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), leite de amêndoa ($1,37 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), leite de avelã ($0,65 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), leite de soja comercial ($2,95 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), leite de quinoa ($1,26 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), leite de aveia ($0,78 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) e leite de arroz ($0,07 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) (ISANGA; ZHAG, 2009; BERNAT *et al.*, 2015; MÄKINEN *et al.*, 2015).

Quanto ao teor de lipídios, verificou-se maior concentração nas frações de gelo do primeiro e segundo estágios. O mesmo foi observado por Berenhauser *et al.* (2017) para a primeira fração de gelo da criocongentração do leite humano. Ayed *et al.* (2018) concluíram que a

mudança na natureza do lipídio modificava seu perfil. Portanto, no nosso caso, acreditamos que ocorre uma agregação de gotículas lipídicas em ambas as frações de gelo (1 e 2). Segundo Méndez-Velasco; Goff (2012), a agregação de gotículas é devida à coalescência e / ou floculação dos lipídios. Uma coalescência parcial ocorre quando cristais lipídicos salientes de gotículas penetram em gotículas vizinhas em contato próximo, enquanto a coalescência completa é notada quando as gotículas se fundem completamente nas maiores. Neste caso, os cristais de lipídios mantêm as gotículas juntas como aglomerados que podem continuar a crescer em agregados de tamanho maior. Floculação refere-se a gotículas mantidas juntas por áreas de superfície nua interagindo juntas (MÉNDEZ-VELASCO; GOFF, 2012). Por outro lado, esses mesmos autores destacaram que os cristais lipídicos são preferencialmente umedecidos pelo óleo, o que também contribuiria para sua manutenção dentro da gotícula. Este fato também poderia ter influenciado o alto valor energético encontrado para a fração de gelo (1 e 2). No entanto, para os estágios subsequentes de crioconcentração, observou-se aumento progressivo no valor energéticototal.

OsEHS concentrados apresentaram um alto teor lipídico. Como descrito no capítulo 2 deste trabalho, o óleo da castanha de sapucaia possui alto teor de ácidos graxos insaturados (ácidos oléico e linoléico), γ -tocoferol e β -sitosterol, e conseqüentemente estão presentes na fração lipídica do extrato hidrossolúvel.

Tabela 4.2: Propriedade físico-química do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial, concentrados (C) e gelo (G) para cada estágio de crioconcentração.

Amostras		Determinações						
		Sólidos Totais (g. 100 g ⁻¹)	Proteína* (g. 100 g ⁻¹)	Lípidos (g. 100 g ⁻¹)	Cinzas (g. 100 g ⁻¹)	Carboidratos (g. 100 g ⁻¹)	Valor energético (kcal. 100 g ⁻¹)	Sólidos solúveis (°Brix)
EHS		8,25 ± 0,11 ^{Ea}	1,89 ± 0,01 ^{Eb}	4,39 ± 0,07 ^{Ab}	0,67 ± 0,05 ^{Da}	1,30 ± 0,01 ^{Dbc}	52,2 ± 0,56 ^{Cb}	3,83 ± 0,15 ^{Eb}
Estágio 1	C1	9,71 ± 0,20 ^{DE4}	2,30 ± 0,04 ^{D4}	2,36 ± 0,04 ^{C3}	0,66 ± 0,03 ^{D4}	2,04 ± 0,37 ^{D3}	38,6 ± 0,91 ^{E5}	4,10 ± 0,17 ^{E5}
	G1	8,63 ± 0,10 ^a	2,13 ± 0,12 ^a	5,12 ± 0,34 ^a	0,37 ± 0,01 ^b	1,00 ± 0,33 ^{bc}	58,6 ± 1,29 ^a	3,07 ± 0,15 ^c
Estágio 2	C2	10,16 ± 0,93 ^{D4}	2,60 ± 0,02 ^{D4}	2,48 ± 0,18 ^{C3}	0,70 ± 0,01 ^{D4}	3,87 ± 0,34 ^{BC2}	48,2 ± 0,13 ^{D4}	5,83 ± 0,06 ^{D4}
	G2	6,60 ± 0,74 ^b	0,89 ± 0,02 ^c	3,34 ± 0,12 ^c	0,23 ± 0,04 ^b	2,60 ± 0,14 ^a	44,1 ± 0,58 ^c	2,07 ± 0,15 ^d
Estágio 3	C3	11,49 ± 0,67 ^{C3}	4,28 ± 0,03 ^{C3}	2,26 ± 0,15 ^{C3}	1,16 ± 0,01 ^{C3}	4,18 ± 0,22 ^{B2}	54,2 ± 0,33 ^{C3}	9,37 ± 0,21 ^{C3}
	G3	4,27 ± 0,14 ^c	0,82 ± 0,03 ^c	0,67 ± 0,05 ^d	0,13 ± 0,01 ^c	2,68 ± 0,05 ^a	20,1 ± 0,94 ^d	1,77 ± 0,21 ^{de}
Estágio 4	C4	15,90 ± 0,04 ^{B2}	7,37 ± 0,20 ^{B2}	3,55 ± 0,03 ^{B2}	1,87 ± 0,05 ^{B2}	3,11 ± 0,33 ^{C23}	73,8 ± 0,24 ^{B2}	16,2 ± 0,32 ^{B2}
	G4	2,50 ± 0,37 ^d	0,75 ± 0,02 ^c	0,45 ± 0,07 ^d	0,11 ± 0,01 ^c	0,98 ± 0,24 ^c	10,9 ± 0,19 ^e	1,57 ± 0,06 ^e
Estágio 5	C5	26,79 ± 0,10 ^{A1}	12,10 ± 0,02 ^{A1}	4,01 ± 0,07 ^{A1}	2,96 ± 0,03 ^{A1}	7,77 ± 0,02 ^{A1}	115,5 ± 0,61 ^{A1}	28,1 ± 0,26 ^{A1}
	G5	4,83 ± 0,02 ^c	1,95 ± 0,02 ^{ab}	0,75 ± 0,16 ^d	0,35 ± 0,01 ^b	1,78 ± 0,20 ^b	21,7 ± 0,67 ^d	4,60 ± 0,06 ^a

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3). ^{A-F}Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o EHS inicial e o C de cada estágio de crioconcentração. ^{a-f}Diferentes letras minúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o EHS inicial e o G de cada estágio de crioconcentração. ¹⁻Diferentes números na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o C de cada estágio de crioconcentração.

Com o progresso do processo de crioconcentração, entre todas as frações (concentrados e gelos) não foram observadas grandes variações para acidez titulável e valores de pH. Os valores de acidez titulável aumentaram em paralelo com uma diminuição nos valores de pH ao longo dos estágios de crioconcentração. Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) nos valores de acidez entre as frações de gelo de cada estágio de crioconcentração. Em relação aos resultados de pH, as frações concentradas (C3, C4 e C5) diminuíram em contraste ao pH do EHS inicial ($p < 0,05$). O valor do pH da fração de gelo no terceiro e quarto estágios aumentou em relação ao pH do EHS inicial ($p < 0,05$) (Tabela 4.3).

Tabela 4.3: Propriedade físico-química (Acidez titulável e pH) do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial, concentrados (C) e gelo (G) para cada estágio de crioconcentração.

		Acidez titulável (g 100 g ⁻¹ ácido láctico)	pH
EHS		0,01 ± 0,01 ^{Eb}	6,35 ± 0,01 ^{Ae}
Estágio 1	C1	0,01 ± 0,01 ^{E5}	6,37 ± 0,01 ^{A1}
	G1	0,01 ± 0,01 ^a	6,50 ± 0,01 ^c
Estágio 2	C2	0,02 ± 0,01 ^{D4}	6,35 ± 0,01 ^{A12}
	G2	0,01 ± 0,01 ^a	6,56 ± 0,01 ^b
Estágio 3	C3	0,03 ± 0,01 ^{C3}	6,30 ± 0,01 ^{B2}
	G3	0,01 ± 0,01 ^a	6,64 ± 0,01 ^a
Estágio 4	C4	0,06 ± 0,01 ^{B2}	6,20 ± 0,01 ^{C3}
	G4	0,01 ± 0,01 ^a	6,65 ± 0,01 ^a
Estágio 5	C5	0,09 ± 0,02 ^{A1}	6,02 ± 0,03 ^{D4}
	G5	0,01 ± 0,01 ^a	6,41 ± 0,02 ^d

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3). ^{A-F}Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre o EHS inicial e o C de cada estágio de crioconcentração. ^{a-f}Diferentes letras minúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre o EHS inicial e o G de cada estágio de crioconcentração. ¹⁻⁴Diferentes números na mesma coluna apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre o C de cada estágio de crioconcentração.

3.1.1. Composição mineral

A Tabela 4.4 mostra o conteúdo mineral para as amostras estudadas. Os elementos cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn), zinco (Zn), selênio (Se), sódio (Na), cobre (Cu), níquel (Ni), alumínio (Al), chumbo (Pb) e estanho (Sn) aumentaram significativamente ($p < 0,05$) em todos os estágios de crioconcentração. Macrominerais como

Ca e Mg são predominantes na castanha Sapucaia. O Ca, que é um dos principais minerais requeridos pelo corpo humano, na fração concentrada C4 (9,27 mg g⁻¹), por exemplo, é quase cinco vezes maior em relação a torta de sapucaia (1,9 mg g⁻¹) (Capítulo 2). O Mg é o macromineral mais abundante na torta de sapucaia (2,7 mg g⁻¹) (Capítulo 2). Foi possível observar um aumento no teor de Mg de aproximadamente 22 vezes no quarto estágio de crioconcentração do EHS (61,0 mg g⁻¹).

Os microminerais predominantes com valor nutricional relatados para a torta de sapucaia são Mn (53,9 µg g⁻¹), Zn (28,4 µg g⁻¹), Cu (22,9 µg g⁻¹), Al (5,31 µg g⁻¹) e Ni (5,31 µg g⁻¹) (Capítulo 2). Observou-se maior quantidade de microminerais no EHS concentrado quando comparada a torta de sapucaia. Cr, Mo e Cd não foram detectados no EHS. Além disso, não foram detectados Ni, Al e Sn nas frações de gelo.

Um aumento de aproximadamente cinco vezes no quinto estágio de crioconcentração para o selênio pode ser observado quando comparado ao extrato inicial. A torta de sapucaia apresenta alto conteúdo de selênio (média de 42 µg g⁻¹). Sabe-se que a ingestão máxima tolerada de selênio é de 400 µg/dia e que doses acima tem sido relacionadas a efeitos tóxicos. Assim, o EHS concentrado pode ser utilizado diluído em água ou como um ingrediente promissor para o aprimoramento nutricional de outros produtos alimentícios. Esta técnica de concentração pode ser usada para a produção de bebidas à base de oleaginosas com baixo teor de selênio, como caju, amêndoa, macadâmia, noz-pecã e avelã (MOREDA-PINEIRO *et al.*, 2016). Macro e micro minerais podem servir como cofatores na produção de energia, em várias funções enzimáticas, metabólicas e fisiológicas no corpo (MOREDA-PINEIRO *et al.*, 2016; MILLENA; SAGUM, 2018). É amplamente sabido que todo mineral tem sua própria função de uma maneira ou de outra na manutenção da homeostase do corpo. O consumo do EHS juntamente com outras variedades alimentares pode contribuir para as quantidades minerais necessários pelo corpo humano.

Tabela 4.4: Composição mineral do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial, fração concentrada (C) e gelo (G) para cada estágio de crioconcentração.

Amostras		Elementos										
		Ca (mg g ⁻¹)	Mg (mg g ⁻¹)	Mn (mg g ⁻¹)	Zn (mg g ⁻¹)	Se (µg g ⁻¹)	Na (µg g ⁻¹)	Cu (µg g ⁻¹)	Ni (µg g ⁻¹)	Al (µg g ⁻¹)	Pb (µg g ⁻¹)	Sn (µg g ⁻¹)
EHS		6,20 ^{Fb}	28,4 ^{Fa}	3,91 ^{Fc}	2,07 ^{Fa}	2004 ^{Fb}	3075 ^{Fa}	3086 ^{Fa}	176 ^F	29,4 ^F	31,9 ^{Ba}	21,4 ^D
Estágio1	C1	6,91 ^{E5}	31,0 ^{E5}	6,34 ^{D4}	4,08 ^{C3}	2703 ^{D4}	3104 ^{E5}	4217 ^{D4}	482 ^{D5}	44,2 ^{E5}	31,6 ^{B2}	23,7 ^{CD3}
	G1	5,10 ^c	9,82 ^e	3,95 ^b	1,98 ^b	2204 ^a	1169 ^f	2201 ^b	< LOQ	< LOQ	30,3 ^a	< LOQ
Estágio2	C2	7,19 ^{D4}	32,9 ^{D4}	5,41 ^{E5}	3,15 ^{E5}	3719 ^{E5}	3171 ^{C3}	3524 ^{E5}	347 ^{E4}	53,7 ^{D4}	31,1 ^{B2}	26,2 ^{CD3}
	G2	5,04 ^c	12,5 ^d	3,36 ^e	1,34 ^d	1711 ^d	1872 ^d	1654 ^d	< LOQ	< LOQ	33,5 ^a	< LOQ
Estágio3	C3	8,40 ^{C3}	43,5 ^{C3}	6,86 ^{C3}	3,32 ^{D4}	4613 ^{C3}	3152 ^{D4}	5311 ^{C3}	735 ^{C3}	95,7 ^{C3}	31,6 ^{B2}	30,2 ^{C3}
	G3	5,02 ^c	13,1 ^c	3,66 ^d	1,42 ^c	1617 ^e	2552 ^c	1695 ^c	< LOQ	< LOQ	34,1 ^a	< LOQ
Estágio4	C4	9,27 ^{B2}	61,0 ^{B2}	11,1 ^{B2}	10,7 ^{B2}	8534 ^{B2}	3231 ^{B2}	14542 ^{B2}	2624 ^{B2}	142 ^{B2}	42,1 ^{A1}	47,5 ^{B2}
	G4	3,05 ^d	9,21 ^f	2,95 ^f	0,84 ^e	1567 ^f	1592 ^e	1475 ^e	< LOQ	< LOQ	35,3 ^a	< LOQ
Estágio5	C5	12,2 ^{A1}	99,1 ^{A1}	11,7 ^{A1}	12,4 ^{A1}	10037 ^{A1}	3344 ^{A1}	19101 ^{A1}	3533 ^{A1}	212 ^{A1}	45,8 ^{A1}	66,6 ^{A1}
	G5	7,33 ^a	16,2 ^b	4,10 ^a	0,77 ^f	1917 ^c	2852 ^b	1696 ^e	< LOQ	< LOQ	33,9 ^a	< LOQ

Os resultados são expressos como média \pm desvio padrão (n = 3). ^{A-F}Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p < 0,05) entre o EHS inicial e o C de cada estágio de crioconcentração. ^{a-f}Diferentes letras minúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p < 0,05) entre o EHS inicial e o G de cada estágio de crioconcentração. ¹⁻⁴Diferentes números na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p < 0,05) entre o C de cada estágio de crioconcentração. LOQ: limite de quantificação.

3.2. Densidade e cor

A Tabela 4.5 mostra os parâmetros de densidade e cor de cada estágio de crioconcentração para o EHS inicial, concentrados (C1, C2, C3, C4 e C5) e gelo (G1, G2, G3, G4 e G5). Embora muitas vezes seja dada muita atenção à composição dos alimentos e seu valor energético, Stumbo; Weiss (2011) destacaram que os valores de densidade são necessários para algumas aplicações em alimentos. Portanto, durante a avaliação deste parâmetro físico, notou-se que a densidade de todas as frações concentradas aumentou com os estágios de crioconcentração, sendo significativamente maior ($p < 0,05$) para C5. Este comportamento está de acordo com os encontrados por Aider; Ounis (2012), que afirmam que os sólidos totais são responsáveis pelo aumento da densidade alimentar. Portanto, como esperado, nas frações de gelo, houve uma diminuição em comparação com a densidade inicial do EHS.

Tabela 4.5: Densidade e cor (L^* , a^* , b^* , C^* , h^*) do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial, fração concentrada (C) e gelo (G) para cada estágio de crioconcentração.

		Densidade (g/cm ³)	L^*	a^*	b^*	C^*	h^*
EHS		1,02 ± 0,01 ^{Da}	63,40 ± 0,25 ^{Aa}	-0,52 ± 0,05 ^{Da}	5,23 ± 0,08 ^{Da}	5,26 ± 0,08 ^{Da}	95,67 ± 0,51 ^{Cd}
Estágio 1	C1	1,02 ± 0,01 ^{D4}	60,56 ± 0,40 ^{C3}	-1,00 ± 0,03 ^{F5}	5,24 ± 0,04 ^{D4}	5,34 ± 0,03 ^{D4}	100,77 ± 0,26 ^{A1}
	G1	1,01 ± 0,01 ^b	58,51 ± 0,40 ^b	-0,54 ± 0,01 ^a	3,15 ± 0,10 ^c	3,20 ± 0,09 ^c	99,68 ± 0,43 ^{cd}
Estágio 2	C2	1,03 ± 0,01 ^{C3}	60,17 ± 0,13 ^{C3}	-0,80 ± 0,01 ^{E4}	5,44 ± 0,03 ^{D4}	5,50 ± 0,03 ^{D4}	98,38 ± 0,12 ^{B2}
	G2	1,00 ± 0,01 ^c	57,29 ± 0,13 ^c	-1,28 ± 0,05 ^c	1,36 ± 0,18 ^d	1,88 ± 0,10 ^d	133,45 ± 1,72 ^b
Estágio 3	C3	1,03 ± 0,01 ^{C3}	61,77 ± 0,25 ^{B2}	-0,05 ± 0,03 ^{C3}	8,83 ± 0,17 ^{C3}	8,83 ± 0,17 ^{C3}	90,39 ± 0,29 ^{D3}
	G3	1,00 ± 0,01 ^c	54,24 ± 0,08 ^e	-0,95 ± 0,02 ^b	1,04 ± 0,01 ^e	1,41 ± 0,02 ^e	132,49 ± 0,44 ^b
Estágio 4	C4	1,05 ± 0,01 ^{B2}	62,18 ± 0,17 ^{B2}	0,52 ± 0,02 ^{B2}	11,37 ± 0,04 ^{B2}	11,38 ± 0,04 ^{B2}	87,39 ± 0,09 ^{E4}
	G4	1,01 ± 0,01 ^{bc}	48,49 ± 0,70 ^f	-1,19 ± 0,07 ^c	-0,14 ± 0,02 ^f	1,19 ± 0,07 ^f	184,88 ± 2,23 ^a
Estágio 5	C5	1,10 ± 0,01 ^{A1}	63,08 ± 0,02 ^{A1}	1,17 ± 0,01 ^{A1}	13,94 ± 0,19 ^{A1}	13,99 ± 0,19 ^{A1}	85,22 ± 0,08 ^{F5}
	G5	1,02 ± 0,01 ^a	55,90 ± 0,11 ^d	-0,89 ± 0,02 ^b	4,15 ± 0,04 ^b	4,25 ± 0,04 ^b	102,06 ± 0,32 ^c

Os resultados são expressos em média ± desvio padrão (n = 3). ^{A-F}Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o EHS inicial e o C de cada estágio de crioconcentração. ^{a-f}Diferentes letras minúsculas na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o EHS e o G de cada estágio de crioconcentração. ¹⁻⁴Diferentes números na mesma coluna apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o C de cada estágio de crioconcentração.

Outro parâmetro físico que está relacionado com a aceitabilidade e qualidade de um alimento é a determinação da cor. Suravanichnirachorn *et al.* (2018) definiu que a cor é considerada um atributo importante de qualquer alimento ou bebida, pois pode indicar qualidade, bem como melhorar a aparência, sendo que a aceitabilidade do alimento é diretamente afetada pela cor. Assim, pode-se observar que a concentração de congelamento tem influência significativa nos parâmetros de cor (p <0,05). Com relação ao parâmetro L^* (brilho ou luminosidade), pode-se observar uma diminuição significativa (p <0,05) ao longo dos estágios de crioconcentração quando comprado ao EHS inicial, no entanto, não foi possível notar diferença significativa para a fração concentrada C5. O valor L^* das frações de gelo foi

significativamente maior ($p < 0,05$) em G1, seguido por G2, G5, G3 e G4. Como citado por Berenhauser et al. (2017), a maior luminosidade pode ser atribuída à maior concentração lipídica. Valores negativos do parâmetro a^* indicam uma tendência para coloração verde no EHS inicial, bem como nos concentrados C1, C2 e C3, e em todas as frações de gelo. No entanto, nos concentrados C5 e C4, os valores de a^* foram positivos, indicando um tom avermelhado, sustentando que a cor mudou consideravelmente com a evolução dos estágios de criocongelamento. Estes resultados podem ser atribuídos a uma maior concentração de compostos fitoquímicos. Valores positivos de b^* indicam amarelo e valores negativos indicam tonalidade azul. Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que o tom amarelo do EHS aumentou com o aumento do estágio de criocongelamento, e os concentrados C3, C4 e C5 foram significativamente diferentes do EHS inicial ($p < 0,05$). Valores positivos de b^* também foram encontrados nas frações de gelo G1, G2, G3 e G5, enquanto a fração G4 apresentou valor negativo. Estes valores podem ser atribuídos ao conteúdo lipídico, bem como a presença ou ausência de carotenóides que têm afinidade por lipídios (BERENHAUSER *et al.*, 2017). O Chroma (C^*) representa sua saturação de cor e o Hue (h^*) indica uma avaliação visual da descoloração dos alimentos (tonalidade). Os resultados de C^* indicaram que a saturação aumentou com os estágios de concentração, sendo significativamente maior para o concentrado C5 ($p < 0,05$) e esse fato pode ser atribuído ao maior conteúdo protéico. O C^* na fração G5 foi significativamente maior do que nas demais frações de gelo ($p < 0,05$) e esse fato podem ser atribuídos ao maior conteúdo lipídico. Os resultados obtidos para h^* indicaram que todas as frações concentradas e frações de gelo obtidas durante o processo de congelamento mudaram significativamente ($p < 0,05$).

3.3. Perfil de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS

As informações dos limites de detecção e quantificação, bem como os tempos de retenção, a equação da curva e o coeficiente de determinação obtidos a partir da análise dos compostos fenólicos são mostrados Tabela 4.6.

Tabela 4.6: Íon precursor, íon quantitativo, tempo de retenção, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), equações da curva e coeficientes de determinação (R^2) da análise de compostos fenólicos do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial, fração concentrada (C) e gelo (G) para cada estágio de crioconcentração.

Compostos fenólicos	[M-H] / Íon quantitativo (m/z)	Tempo de retenção (min.)	LOD (mg. L ⁻¹)*	LOQ (mg. L ⁻¹)**	Equação da curva	Coefficiente de determinação (R ²)
Ácido gálico	168,8/124,1	3,98	0,022	0,074	y = 32734x + 21,9	1,0000
Catequina	288,8/120,3	8,82	0,001	0,004	y = 45555x + 131,0	0,9985
Epicatequina	288,9/122,3	9,41	0,007	0,025	y = 10978x - 810,3	0,9999
Ácido vanílico	166,8/148,5	9,65	0,009	0,032	y = 11969x + 3118,0	0,9990
Ácido siríntrico	196,8/119,6	10,01	0,005	0,017	y = 20431x + 115,4	0,9999
Taxifolina	302,8/120,7	10,70	0,003	0,010	y = 21649x + 1684,1	0,9990
Ácido ferúlico	192,8/129,7	10,73	0,002	0,008	y = 23762x + 6511,0	0,9999
Quercetina	301,0/149,3	10,84	0,009	0,030	y = 97299x + 49,75	0,9980
Ácido sinápico	222,8/161,6	10,87	0,004	0,012	y = 15935x - 208,5	0,9999
Ácido salicílico	136,9/91,1	10,99	0,001	0,004	y = 200000x + 13786	0,9999
Sinalpadeído	206,9/174,4	11,39	0,001	0,004	y = 23746x + 209,2	0,9990
Ácido elágico	300,8/142,5	11,71	0,180	0,600	y = 34689x - 463,0	0,9990

*Razão sinal/Ruído. **Níveis de Concentração.

A Tabela 4.7 mostra o perfil fenólico de cada estágio de crioconcentração para as frações iniciais do EHS e do fluido concentrado (C1, C2, C3, C4 e C5). Entre os 12 compostos fenólicos identificados, sete eram ácidos fenólicos (ácidos gálico, vanílico, siríngico, ferúlico, sinápico, salicílico e elágico), 4 flavonóides (catequina, epicatequina, taxifolina e quercetina) e 1 fenol aldeído (sinapaldeído). Os ácidos vanílico e ferúlico foram quantificados em todas as amostras e foram concentrados após o terceiro estágio de criocongelamento em comparação com o EHS inicial. A maior concentração de ácido vanílico e ferúlico foi observada na fração C5. O ácido sinápico foi quantificado em todos os estágios de concentração e foi significativamente maior ($p < 0,05$) para as frações C3, C4 e C5. O ácido salicílico foi quantificado nas frações C3, C4 e C5; mas não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$). A catequina foi quantificada nas frações C2, C3, C4 e C5 e também não apresentaram diferenças ($p > 0,05$). O ácido gálico foi quantificado em C4 e C5; e a quercetina e o sinapaldeído foram quantificados apenas na fração C5. O gelo (G5) apresentou maior teor fenólico que o EHS inicial. Os ácidos gálico, sinápico e salicílico; catequina, epicatequina, taxifolina e quercetina foram identificados no G5. O ácido ferúlico foi quantificado em G5. Segundo Aider *et al.* (2017), os maiores teores de compostos fenólicos na fração de gelo se devem à interação do hidrogênio com a água, permitindo que os compostos fenólicos sejam aprisionados nas moléculas de água, sendo transportados para a fração de gelo.

Foi possível observar que cinco dos compostos fenólicos identificados na castanha de sapucaia (Capítulo 3) foram quantificados após o processo de crioconcentração dos EHS (ácidos gálico, sinápico e salicílico, taxifolina e sinapaldeído).

Atualmente, os polifenóis são utilizados como ingrediente funcional em preparações alimentícias e suplementos alimentares (CHEN *et al.*, 2017). A ingestão alimentar de polifenóis, como flavonóides são sugeridos para prevenir e diminuir o risco de doenças crônicas. É provável que os polifenóis tenham papel preventivo e terapêutico em condições inflamatórias crônicas (MENNEN *et al.*, 2004; GARCÍA-LAFUENTE *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2017).

ANEXO D e E estão os cromatogramas representativos das amostras de EHS inicial e concentrado no estágio cinco (C5), respectivamente.

Tabela 4.7: Perfil fenólico (mg g⁻¹) do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial e fração concentrada (C) para cada estágio de criocongelação.

Compostos fenólicos (mg g ⁻¹)	EHS	C1	C2	C3	C4	C5
Ácidos fenólicos						
Ácido gálico	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,011 ± 0,002 ¹	0,015 ± 0,004 ¹
Ácido vanílico	0,011 ± 0,002 ^D	0,008 ± 0,001 ^{D4}	0,008 ± 0,001 ^{D4}	0,028 ± 0,004 ^{C3}	0,051 ± 0,005 ^{B2}	0,097 ± 0,012 ^{A1}
Ácido siríngico	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ácido ferúlico	0,016 ± 0,007 ^{Bab}	0,013 ± 0,002 ^{B2}	0,021 ± 0,005 ^{B2}	0,070 ± 0,006 ^{AB12}	0,071 ± 0,027 ^{AB12}	0,109 ± 0,026 ^{A1}
Ácido sinápico	<LOQ	0,006 ± 0,001 ²	0,007 ± 0,002 ²	0,014 ± 0,003 ¹²	0,018 ± 0,006 ¹²	0,029 ± 0,011 ¹
Ácido salicílico	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,011 ± 0,008 ¹	0,022 ± 0,007 ¹	0,027 ± 0,006 ¹
Ácido elágico	-	-	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Flavonóides						
Catequina	-	<LOQ	0,011 ± 0,007 ¹	0,011 ± 0,003 ¹	0,013 ± 0,009 ¹	0,014 ± 0,006 ¹
Epicatequina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Taxifolina	-	-	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,009 ± 0,002
Quercetina	-	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Aldeído fenol						
Sinapaldeído	-	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,030 ± 0,001

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3). ^{A-F}Diferentes letras maiúsculas na mesma linha apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o EHS e o C de cada estágio de criocongelação. ¹⁻⁴Diferentes números na mesma linha apresentaram diferença significativa (p <0,05) entre o C de cada estágio de criocongelação. -: < LOD (limite de detecção). LOQ: limite de quantificação.

3.4. Avaliação do conteúdo de compostos fenólicos totais (FT) e atividade antioxidante

O conteúdo de FT e atividade antioxidante de cada estágio de criocongelação para o EHS inicial, as frações concentradas (C1, C2, C3, C4 e C5) e de gelo (G1, G2, G3, G4 e G5) estão descritas na Tabela 4.8.

Tabela 4.8: Teor de fenólicos totais (FT) e atividade antioxidante (ABTS e FRAP) do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS) inicial, concentrado (C) e gelo (G) para cada estágio de criocongelação.

		FT (mg GAE g ⁻¹)	ABTS (μmol TEAC g ⁻¹)	FRAP (μmol TEAC g ⁻¹)
EHS		6,97 ± 0,08 ^{Da}	20,63 ± 1,25 ^{Da}	10,14 ± 0,45 ^{Ea}
Estágio 1	C1	6,64 ± 0,04 ^{E4}	29,21 ± 0,84 ^{C3}	10,90 ± 0,47 ^{E5}
	G1	3,71 ± 0,07 ^{cd}	1,74 ± 0,11 ^d	6,31 ± 0,65 ^b
Estágio 2	C2	6,33 ± 0,02 ^{F5}	30,04 ± 1,58 ^{C3}	13,03 ± 0,16 ^{D4}
	G2	3,51 ± 0,11 ^d	4,68 ± 0,46 ^{bc}	5,20 ± 0,19 ^c
Estágio 3	C3	10,0 ± 0,09 ^{C3}	34,55 ± 1,27 ^{A1}	32,41 ± 0,50 ^{C3}
	G3	3,77 ± 0,04 ^c	3,50 ± 0,14 ^c	4,38 ± 0,15 ^c
Estágio 4	C4	15,2 ± 0,03 ^{B2}	35,65 ± 1,16 ^{AB12}	39,91 ± 0,59 ^{B2}
	G4	3,01 ± 0,05 ^e	4,24 ± 0,07 ^c	2,78 ± 0,10 ^d
Estágio 5	C5	20,5 ± 0,18 ^{A1}	39,20 ± 0,44 ^{B2}	49,42 ± 0,96 ^{A1}
	G5	6,57 ± 0,08 ^b	5,80 ± 0,10 ^b	4,35 ± 0,14 ^c

Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3). ^{A-F}Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05) entre o EHS inicial e o C de cada estágio de criocongelação. ¹⁻⁴Diferentes números na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05) entre o C de cada estágio de criocongelação. ^{a-f}Diferentes letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa (p < 0,05) entre o EHS inicial e o G de cada estágio de criocongelação.

O conteúdo de FT em C1 e C2 diminuíram para a fração concentrada do primeiro e segundo estágio de criocongelação (p < 0,05). No entanto, o efeito dos estágios de criocongelação aumentou significativamente (p < 0,05) para FT em C3, C4 e C5. Segundo Adorno *et al.* (2016), as baixas temperaturas durante o processo promovem a manutenção de compostos fenólicos. Nas frações de gelo, notou-se que os FT de G4 foi significativamente menor (p < 0,05) do que o de todas as outras frações de gelo e o EHS inicial. Além disso, verificou-se que

osFT de G5 aumentaram significativamente ($p < 0,05$) quando comparado ao gelo de todas as outras etapas. O aumento dosFT na fração de gelo ocorre, possivelmente, em função das ligações de hidrogênio e, conseqüentemente, os fenólicos podem se ligar a um grande número de moléculas de água. A alta concentração de fenólicos na solução faz com que a água intersticial fique menos acessível ao congelamento. Como resultado, durante a separação do fluido concentrado e do gelo, a fase congelada permanece rica em FT, e esse fenômeno pode diminuir a eficácia do processo (AIDER *et al.*, 2007).

Um aumento significativo ($p < 0,05$) foi observado no potencial antioxidante medido pelo ensaio ABTS em C3, C4 e C5. A maior capacidade antioxidante ($p < 0,05$) foi observada no ensaio ABTS para C5 ($39,20 \pm 1,27 \mu\text{mol TEAC g}^{-1}$). A atividade antioxidante determinada pelo ensaio FRAP aumentou significativamente ($p < 0,05$) para todos os cinco concentrados. Outros estudos também verificaram um aumento na atividade antioxidante de extratos vegetais concentrados por crioconcentração, como por exemplo, extrato aquoso de erva mate (BOAVENTURA *et al.*, 2013); extrato de café (MORENO *et al.*, 2014); soro de leite de tofu (BENEDETTI *et al.*, 2015); e suco de morango (ADORNO *et al.*, 2016).

Além disso, uma análise de correlação foi usada para explorar as relações entre o FT, FRAP, ABTS e fenólicos individuais medidos para o EHS inicial e as frações concentradas (C) (Tabela 4.9).

Tabela 4.9: Correlação entre FT, capacidade antioxidante (FRAP e ABTS) e compostos fenólicos individuais do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia (EHS) inicial e fração concentrada (C) para cada estágio de crioconcentração.

Parâmetros	FT	FRAP	ABTS
FRAP	0,9539**		
ABTS	0,5358	0,7343**	
Ácido gálico	0,9415**	0,8554**	0,4090
Ácido vanílico	0,9794**	0,9214**	0,4920
Ácido ferúlico	0,8074**	0,8400**	0,6169*
Ácido sinápico	0,8622**	0,8648**	0,6357*
Ácido salicílico	0,7344**	0,7304**	0,5125
Catequina	0,4617	0,5411	0,5435
Taxifolina	0,8039**	0,6732**	0,2007
Sinapaldeído	0,8126**	0,6789**	0,2070

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Foi encontrada uma correlação significativa ($p < 0,01$) entre a atividade antioxidante medida pelos ensaios de FRAP e ABTS ($r = 0,7343$). A correlação entre o ABTS e o FRAP é esperada porque todos esses ensaios compartilham o mesmo princípio (transferência de elétrons) (MA *et al.*, 2011). Além disso, os compostos fenólicos individuais quantificados (exceto catequina) mostraram uma correlação positiva e significativa ($p < 0,01$), principalmente com FT e FRAP. Entretanto, apenas os ácidos ferúlico e sinápico apresentaram correlação positiva e significativa ($p < 0,05$) com os ensaios ABTS.

O perfil fenólico do EHS pode explicar o fato das amostras apresentarem alta atividade sequestradora de radicais observadas pelos ensaios de atividade antioxidante. Chen *et al.* (2017) enfatizaram que os grupos hidroxila que se depositam na estrutura molecular dos ácidos fenólicos e flavonóides afetam as propriedades antioxidantes.

Finalmente, a partir do processo de crioconcentração em bloco, considerado uma alternativa econômica e simples ao processo de concentração convencional, foi possível compreender a composição físico-química e as propriedades funcionais do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia. Adicionalmente, nossas descobertas também nos fazem acreditar que concentrados do EHS do quarto estágio (ou mais) de crioconcentração em bloco podem ser considerados como um ingrediente promissor para a indústria de alimentos.

4. CONCLUSÃO

O processo de crioconcentração mostrou-se uma possibilidade alternativa para a concentração do EHS. Observou-se para o quarto estágio de crioconcentração um aumento para o teor de sólidos totais, proteínas, cinzas e carboidratos, bem como para o conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante. Os resultados mostraram que foi possível concentrar os compostos nutricionais, o teor de componentes bioativos e a atividade antioxidante do EHS por meio do processo de crioconcentração em bloco. O resultado deste estudo pode ser relevante para a produção de alimentos e / ou bebidas utilizando o EHS concentrado como um ingrediente para aumentar o valor nutricional, e consequentemente, aumentar a diversidade de produtos funcionais no mercado.

REFERÊNCIAS

- ADORNO, W. T.; REZZADORI, K.; AREND, G. D.; CHAVES, V. C.; REGINATTO, F. H.; LUCCIO, M. D.; PETRUS, J. C. C. Enhancement of phenolic compounds content and antioxidant activity of strawberry (*Fragaria × ananassa*) juice by block freeze concentration technology. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 52, p. 781-787, 2016.
- AIDER, M.; HALLEUX, D.; AKBACHE, A. Whey Cryoconcentration and Impact on Its Composition. **Journal of Food Engineering**. v. 82, p. 92-102, 2007.
- AIDER, M.; HALLEUX, D. Review. Cryoconcentration Technology in the Bio-Food Industry: Principles and Applications. **LWT-Food Science and Technology**.v. 42, p. 679-685, 2009.
- AIDER, M.; OUNIS, W.B. Skim Milk Cryoconcentration as Affected by the Thawing Mode: Gravitational vs. Microwave-Assisted. **International Journal of Food Science and Technology**.v. 47, p. 195-202, 2012.
- ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**.v. 15, p. 655–665, 2002.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the AOAC**. (18th. Ed.), AOAC, Arlington, VA, 2005.
- BENEDETTI, S.; PRUDÊNCIO, E. S.; NUNES, G. L.; GUIZONI, K.; FOGAÇA, L. A.; PETRUS, J. C.C. Antioxidant properties of tofu whey concentrate by freeze concentration and nanofiltration processes. **Journal of Food Engineering**. v. 160, p. 49–55, 2015.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**.v. 239, p. 70-76, 1996.
- BERENHAUSER, A.C.; CANELLA, M.H.M.; MUÑOZ, I.B.; PRUDENCIO, E.S.; OLIVEIRA, J. V.; BLOCK, J. M. The Impact of

the Block Freeze Concentration Process on Human Milk Properties Intended for Feeding Newborns. **Food and Nutrition Sciences**, v. 8, p. 402-418, 2017.

BERNAT, N.; CHÁFER, M.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, J.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. **LWT - Food Science and Technology**, 62 (Part 2), 488–496, 2015.

BOAVENTURA, B.C.B.; MURAKAMI, A.N. N.; PRUDÊNCIO, E.S.; MARASCHIN, M.; MURAKAMI, F.S.; AMANTE, E.R.; CASTANHO, R.D.M. Enhancement of Bioactive Compounds Content and Antioxidant Activity of Aqueous Extract of Mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) through Freeze Concentration Technology. **Food Research International**.v. 53, p. 686-692, 2013.

CHEN, L., TENG, H., XIE, Z., CAO, H., CHEANG W.S., SKALICKA-WONIAK, K., GEORGIEU, M.I., XIAO, J. Modifications of dietary flavonoids towards improved bioactivity: An update on structure–activity relationship. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 58, 513 – 527, 2017.

DEMIRKESEN, I.; MERT, B.; SUMNU, G.; SAHIN, S. Utilization of chestnut flour in gluten-free bread. **Journal of Food Engineering**, v. 101, p. 329-336, 2010.

DEMOLINER, F.; POLICARPIA, P. B.; RAMOS, J. C.; BASCUÑAN, V. L. A. F.; FERRARI, R. A.; JACHMANIÁND, I.; CASAS, A. F.; VASCONCELOS, L. F. L.;BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**.v. 108, p. 27–34, 2018a.

DEMOLINER, F.; POLICARPIA, P. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: Phenolic compounds profile. **Food Research International**.v. 112, p. 434–442, 2018b.

GARCÍA-LAFUENTE, A.; GUILLAMÓN, E.; VILLARES, A.; ROSTAGNO, M. A.; MARTÍNEZ, J. A. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. **Inflammation Research**, 58, 537–552, 2009.

GUL, O.; SARICA OGLU, F. T.; MORTAS, M.; ATALAR, I.; YAZICI, F. Effect of high pressure homogenization (HPH) on microstructure and rheological properties of hazelnut milk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**.v. 41, p. 411–420, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Analytical Standards of the Adolfo Lutz Institute: Physicochemical Methods for Food Analysis**. IAL, São Paulo. 2008.

ISANGA, J.; ZHANG, G. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, 42, 1132-1138, 2009.

MA, X.; WU, H.; LIU, L.; YAO, Q.; WANG, S.; ZHAN, R.; XING, S.; ZHOU, Y. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. **Science Horticulturae**.v. 129, p. 102-107, 2011.

MÄKINEN, O.E.; UNIACKE-LOWE, T.; O'MAHONY, J.A.; ARENDT, E.K. Physicochemical and acid gelation properties of commercial UHT-treated plant-based milk substitutes and lactose free bovine milk. **Food Chemistry**, 168, 630-638, 2015.

MASOUD, W.; JAKOBSEN, M. Surface Ripened Cheeses: The Effects of *Debaryomyces hansenii*, NaCl and pH on the Intensity of Pigmentation Produced by *Brevibacterium linens* and *Corynebacterium flavescens*. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 231-237, 2003.

MÉNDEZ-VELASCO, C.; GOFF, H.D. Fat structure in ice cream: A study on the types of fat interactions. **Food Hydrocolloids**, 29, 152-159, 2012.

MENNEN, L. I.; SAPINHO, D.; DE BREE, A.; ARNAULT, N.; BERTRAI, S.; GALAN, P.; HERCBERG, S. Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women. **The Journal of Nutrition**. 134, 923–926, 2004.

MILLENA, C.G.; SAGUM, R.S. Philippine Pili (*Canarium ovatum*, Engl.) varieties as source of essential minerals and trace elements in human nutrition. **Journal of Food Composition and Analysis**, 69, 53-61, 2018.

MIR, S. A.; DON BOSCO, S. J.; SHAH, M. A. Technological and nutritional properties of gluten-free snacks based on brown rice and chestnut flour. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. In Press. (<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.02.002>). 2017.

MOREDA-PIÑEIRO, J.; HERBELLO-HERMELO, P.; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R.; BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PIÑEIRO, A. Bioavailability assessment of essential and toxic metals in edible nuts and seeds. **Food Chemistry**, 205, 146-154, 2016.

MORENO, F.L.; RAVENTÓS, M.; HERNÁNDEZ, E.; RUIZ, Y. Behaviour of falling-film freeze concentration of coffee extract. **Journal of Food Engineering**.v. 141, p. 20-26, 2014.

ORELLANA-PALMA, P.; PETZOLDA, G.; GUERRA-VALLE, M.; ASTUDILLO-LAGOS, M. Impact of block cryoconcentration on polyphenol retention in blueberry juice. **Food Bioscience**, 20, 149-158, 2017.

PETZOLD, G.; MORENO, J.; LASTRA, P.; ROJAS, K.; ORELLANA, P. Block freeze concentration assisted by centrifugation applied to blueberry and pineapple juices. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 30, 192-197, 2015.

PRADO, A. C. P.; ARAGÃO, A. M.; FETT, R.; BLOCK, J. M. Phenolic compounds and antioxidant activity of pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) C . Koch] shell extracts. **Brazilian Journal of Food Technology**.v. 12, p. 323–332, 2009.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 26, p. 1231–1237, 1999.

ROBLES, C.M.; QUINTANILLA-CARVAJAL, M.X.; MORENO, F.L.; HERNANDEZ, E.; RAVENTÓS, M.; RUIZ, Y. Ice morphology

modification and solute recovery improvement by heating and annealing during block freeze-concentration of coffee extracts. **Journal of Food Engineering**, 189, 72-81, 2016.

SCHULZ, M.; BORGES, G. S. C. B.; GONZAGA, L. V.; SERAGLIO, S. K. T. S.; OLIVO, I. S.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GOIS, J. S.; ALMEIDA, T. S.; VITALI, L.; SPUDEIT, D. A.; MICKE, G. A.; BORGES, D. L. G.; FETT, R. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis Martius*) during ripening. **Food Research International**.v. 77, p. 125–131, 2015.

SINGH, G. D.; RIAR, C. S.; SAINI, C.; BAWA, A. S.; SOGI, D. S.; SAXENA, D.C. Indian water chestnut flour-method optimization for preparation, its physicochemical, morphological, pasting properties and its potential in cookies preparation.**LWT - Food Science and Technology**. v. 44, p. 665-672, 2011.

SEQUERA, S.C.; RUIZB, Y.; MORENOB, F.L.; QUINTANILLA-CARVAJALB, M.X.; SALCEDO, F. Rheological evaluation of gelation during thermal treatments in block freezeconcentration of coffee extract. **Journal of Food Engineering**, 242, 76–83, 2019.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**.v. 16, p. 144-158, 1965.

SURAVANICHNIRACHORN, W.; HARUTHAITHANASAN, V.; SUWONSICHON, S.; SUKATTA, U.; MANEEBOON, T.; CHANTRAPORNCHAI, W. Effect of carrier type and concentration on the properties, anthocyanins and antioxidant activity of freeze-dried mao [*Antidesma bunius* (L.) Spreng] powders. **Agriculture and Natural Resources**, 52, 354-360, 2018.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S.; CAMPOS, N. C.; MOITA NETO, J. M. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**.v. 66, p. 197-200, 1999.

YEE, P.L.; WAKISAKA, M.; SHIRAI, Y.; HASSAN, M. A.Effects of Single Food Components on Freeze Concentration by Freezing and

Thawing Technique. **Japan Journal of Food Engineering**.v. 4, p. 77-83, 2003.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos foi possível observar o elevado potencial nutritivo da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess) e de seus subprodutos. A alta atividade antioxidante observada nos extratos da castanha e casca de sapucaia estão relacionados ao perfil e a concentração de compostos bioativos identificados. Desse modo, a castanha de sapucaia e seus subprodutos podem ser uma alternativa futura para aplicação em alimentos e em outros campos tecnológicos, como na indústria farmacêutica e nutrição animal.

O extrato hidrossolúvel elaborado a partir da torta de castanha de sapucaia combinado com o processo de crioconcentração, originou um produto com elevado valor nutricional e de compostos bioativos, sendo esta uma proposta de caráter inovador. Com isso, sugere-se uma possível utilização do extrato crioconcentrado na indústria alimentícia e farmacêutica. A partir deste extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia crioconcentrado, rico em compostos nutricionais, fitoquímicos e com elevado potencial antioxidante, pode-se, futuramente, desenvolver produtos alimentares, tais como bebidas, iogurtes, biscoitos, pães, entre outros, com objetivo de enriquecimento nutricional e de compostos bioativos da sapucaia. Com relação as frações de gelo, sugere-se novos estudos com o aproveitamento desta matéria-prima. Ainda, sugerem-se novos estudos *in vivo* que avaliem o potencial antioxidante do extrato hidrossolúvel da torta da castanha de sapucaia crioconcentrada. Por fim, considerando a inexistências de estudos relativos a incidência de micotoxinas em castanha de sapucaia, sugere-se uma avaliação da ocorrência de aflatoxina.

ANEXOS

ANEXO A: Padrões e parâmetros da espectrometria de massas para os compostos fenólicos testados em castanha e casca de sapucaia.

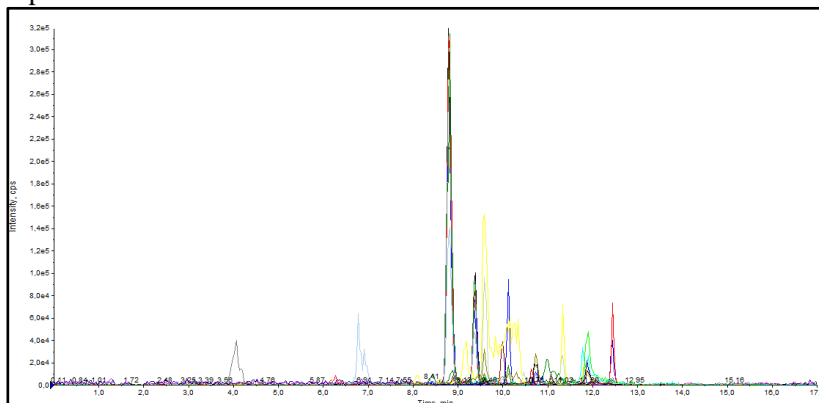
Padrões	DP	EP	CEP	CE	CXP
4-aminobenzóico	-20,00	-9,50	-10,00	-16,00	-2,00
Ácido salicílico	-25,00	-2,50	-10,00	-24,00	-2,00
Ácido sinâmico	-25,00	-9,00	-10,00	-16,00	-2,00
Ácido gálico	-25,00	-11,00	-12,00	-20,00	-4,00
Ácido protocatecuico	-26,00	-9,00	-17,32	-17,00	-4,00
Ácido <i>p</i> -cumárico	-21,00	-4,00	-17,69	-13,00	-6,00
Taxifolina	-95,00	-10,50	-16,00	-30,00	-2,00
Rutina	-31,00	-5,00	-34,19	-27,00	-6,00
Quercetina	-80,00	-6,00	-14,00	-32,00	0,00
Resveratrol	-50,00	-8,50	-18,00	-24,00	-4,00
Miricetina	-65,00	-4,50	-18,00	-34,00	-2,00
Aromadendrina	-45,00	-4,00	-16,00	-32,00	-2,00
Hispidulina	-50,00	-7,00	-22,00	-14,00	-4,00
Camferol	-75,00	-4,50	-16,00	-62,00	-2,00
Ácido <i>p</i> -anísico	-25,00	-5,00	-10,00	-18,00	-2,00
Ácido mandélico	-20,00	-7,50	-10,00	-12,00	-2,00
Vanilina	-25,00	-3,00	-14,00	-14,00	-2,00
Ácido 4 –hidroximetilbenzoico	-30,00	-6,50	-10,00	-18,00	-2,00
Ácido 3,4 hidroximetilbenzoico	-30,00	-7,00	-10,00	-20,00	-2,00
Umbeliferona	-55,00	-4,50	-10,00	-22,00	-4,00
4-hidroxicinâmico	-25,00	-10,50	-12,00	-20,00	-2,00
Ácido metoxifenilacético	-10,00	-10,00	-10,00	-6,00	-2,00
Ácido vanílico	-30,00	-7,00	-10,00	-18,00	-2,00
4-metilumbeliferona	-45,00	-10,50	-10,00	-28,00	-2,00
Coniferaldeído	-25,00	-10,00	-12,00	-20,00	-2,00
Ácido cafeico	-30,00	-11,00	-10,00	-22,00	-2,00
Siringaldeído	-25,00	-4,50	-10,00	-20,00	-4,00
Escopoletina	-35,00	-4,00	-12,00	-14,00	-2,00
Ácido ferúlico	-40,00	-7,00	-10,00	-24,00	-2,00
Ácido siríngico	-30,00	-10,50	-12,00	-28,00	-2,00
Sinalpadeído	-30,00	-3,00	-12,00	-22,00	-2,00
Ácido sinápico	-30,00	-12,00	-16,00	-22,00	0,00
Crisina	-65,00	-10,00	-20,00	-52,00	-2,00
Pinocembrina	-60,00	-12,00	-22,00	-54,00	-2,00
Apigenina	-75,00	-9,00	-14,00	-46,00	-2,00
Galangina	-75,00	-8,50	-16,00	-64,00	-10,00
Naringenina	-60,00	-4,50	-12,00	-28,00	-2,00
Carnosol	-75,00	-5,00	-16,00	-16,00	-4,00
Ácido clorogênico	-25,00	-5,00	-24,00	-28,00	-2,00

Ácido rosmarínico	-50,00	-3,00	-18,00	-28,00	-4,00
Isoquercetina	-245,00	-3,00	-48,00	-44,00	-2,00
Naringina	-250,00	-4,00	-36,00	-52,00	-2,00
Eriodictiol	-75,00	-9,50	-16,00	-36,00	-4,00
Fustina	-45,00	-4,00	-14,00	-38,00	-2,00
Catequina	-55,00	-4,50	-14,00	-34,00	-4,00
Epicatequina	-290,00	-4,00	-16,00	-40,00	-2,00
Ácido elágico	-50,00	-10,50	-16,00	-58,00	0,00
Epicatequina Galato	-115,00	-11,00	-16,00	-30,00	-14,00
Epigallocatequina	-40,00	-5,50	-38,00	-30,00	-14,00

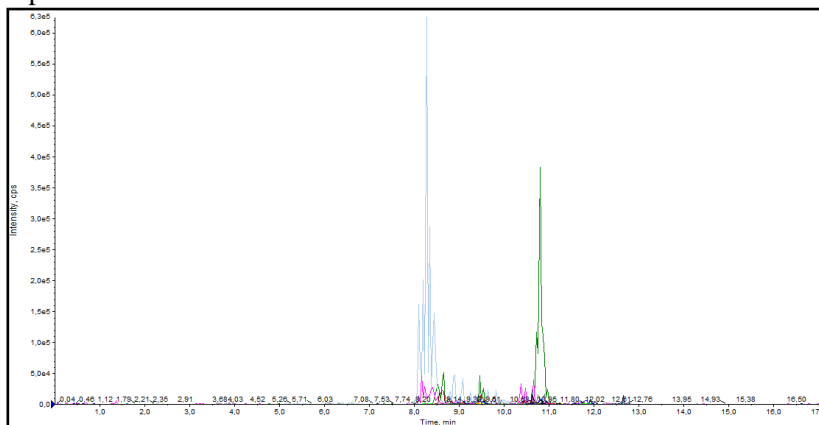
DP - Potencial de desagregação; EP – Potencial de entrada; CEP – Potencial de entrada da célula de colisão; CE – Energia de colisão; CXP - Potencial de saída da célula de colisão.

Fonte: Adaptado de Schulz et al. (2015).

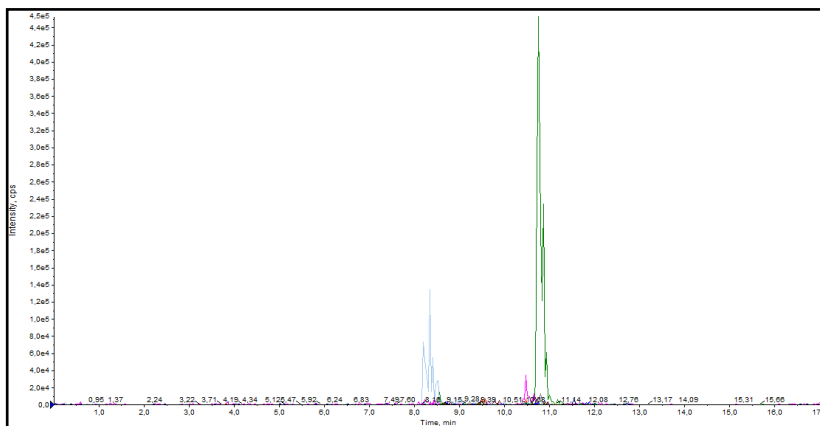
ANEXO B: Cromatograma representativo da amostra da casca de sapucaia.



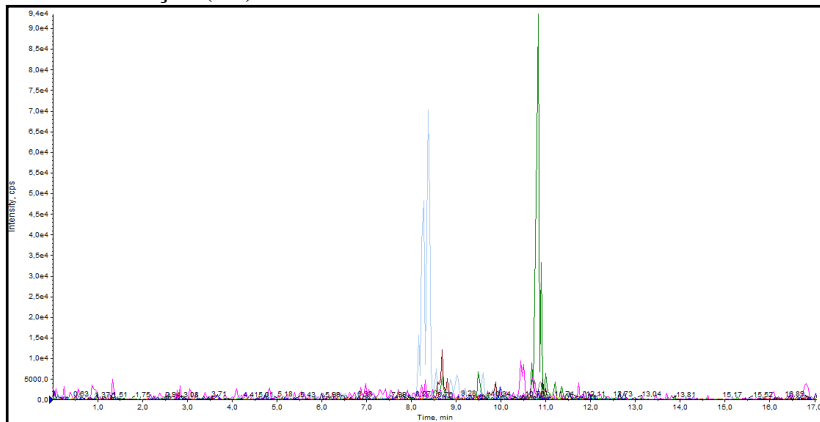
ANEXO C: Cromatograma representativo da amostra da castanha de sapucaia.



ANEXO D: Cromatograma representativo da amostra do extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia (EHS).



ANEXO E: Cromatograma representativo da amostra de extrato hidrossolúvel da torta de castanha de sapucaia no quinto estágio de crioc Concentração (C5).



ANEXO F - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen)



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO
Cadastro de Acesso Nº AAEEB1F

Tipo de Usuário:	Embrapa
Responsável pelo cadastro:	48251879372 78064222572 44820020320 02438775440 22132438800 3066892391 40666330478 26008278812 88280573715 03937239886
Objeto do Acesso:	Patrimônio Genético
O acesso foi realizado antes de 17/11/2015 ou obteve autorização de acesso antes de 17/11/2015?	Sim
Tem autorização de acesso?	Não – Sem solicitação em tramitação
Finalidade da Autorização:	
<input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica	<input type="checkbox"/> Bioprospeção
	<input type="checkbox"/> Desenvolvimento Tecnológico
Finalidade do Acesso:	Pesquisa
Estas atividades são baseadas em acesso realizado anteriormente?:	Sim
Números de Cadastro do Acesso Anterior	
A6C0B36	
Este cadastro está vinculado a cadastro anterior de remessa?	Não
Patrimônio Genético	
Título da Atividade:	RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS NA EMBRAPA EMBRAPA MEIO-NORTE - COLETA, CONSERVAÇÃO, PROPAGAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E DOCUMENTAÇÃO DE GERMOPLASMA
Título da Atividade em Inglês:	GENETIC RESOURCES OF NATIVE FRUITS IN EMBRAPA EMBRAPA MIDDLE NORTH - COLLECTION, CONSERVATION, SPREADING, CHARACTERIZATION AND GERMOPLASMA DOCUMENTATION
Resumo da atividade (Incluindo objetivos e resultados esperados ou obtidos, conforme o caso)	As etapas que envolvem os trabalhos com recursos genéticos de fruteiras nativas na região Meio-Norte do Brasil são extremamente limitadas, e a conservação ex situ desses germoplasmas é quase insignificante diante da diversidade de espécies e da variabilidade intra-espécies existentes. A erosão genética à qual vêm sendo submetidos os germoplasmas de fruteiras nativas da região Meio-Norte provocada,

ANEXO F – Continuação.

Resumo não sigiloso da Atividade em Inglês

principalmente, pela ação antrópica, oaminha num processo muito acelerado, indicando que medidas urgentes devem ser tomadas visando ao resgate e à conservação desse patrimônio genético. As atividades de acesso ao patrimônio genético vegetal deste projeto tiveram início em 20/01/1988 e se estendem até os dias de hoje, sendo exclusivamente para fins de pesquisa científica. Têm como objetivo: 1. Coletar germoplasma de fruteiras nativas (baouri, cajá, cajul, ohiohá, mangaba, pinha e capuoaia) nas áreas de ocorrência natural da região Meio-Norte; 2. Implantar os Bancos Ativos de Germoplasmas (BAG) de Baouri, Cajá, Cajul, Ohiohá, Mangaba, Pinha e Capuoaia da Embrapa Meio-Norte; 3. Realizar caracterização morfológica, agrônômica, ecofisiológica, físico-química e molecular dos germoplasmas de fruteiras nativas (baouri, cajá, cajul, ohiohá, mangaba, pinha e capuoaia); 4. Desenvolver estratégias para propagação vegetativa dos germoplasmas de fruteiras nativas (baouri, cajá, cajul, ohiohá, mangaba, pinha e capuoaia); 5. Desenvolver estratégias para conservação in situ de fruteiras nativas (baouri, cajá, cajul, ohiohá, mangaba, pinha e capuoaia); 6. Documentar os recursos genéticos de fruteiras nativas (baouri, cajá, cajul, ohiohá, mangaba, pinha e capuoaia) na região Meio-Norte do Brasil. Os BAGs de Fruteiras Nativas da Embrapa Meio-Norte foram implantados em 1988, no Campo Experimental de Teresina, PI, sendo realizada até então a introdução de amostras de 77 acessos de baourizeiro, 38 de cajazeira, 37 de cajuzeiro, 14 de ohiohazeiro, 33 de mangabeira, 32 de pinheira e 23 de capuoaieira. Os acessos são caracterizados por meio de descritores morfológicos, agrônômicos, ecofisiológicos, físicoquímicos e moleculares por RAPD e microsatélites. Não foram gerados produtos tecnológicos para comercialização. The stages that involve the work with genetic resources of native fruit trees in the Brazil Mid-North region are extremely limited, and the ex situ conservation of these germoplasms are almost insignificant in face of the species diversity and the intra-specific variability. The native fruit trees germplasms of Brazil Mid-North region has been submitted to genetic erosion caused mainly by anthropic action, is undergoing a very accelerated process, indicating that urgent measures must be taken in order to rescue and preserve this genetic patrimony. The activities of access to the genetic patrimony of this project began on 20/01/1988 and extend nowadays, being exclusively for the purpose of scientific research. They aim to: 1. Collect germplasms of baouri, yellow mombin, cajul, ohiohá, mangaba, outard apple and capuoaia trees in areas of natural occurrence in Brazil Mid-North region; 2. Implement the Active Germplasm Banks (BAG) of Embrapa Mid-North; 3. Execute morphological, agronomy, ecophysiological, physicochemical and molecular characterization of native fruit trees germplasms; 4. Develop strategies for vegetative propagation of native fruit trees germplasms; 5. Develop strategies for in situ conservation of native fruit trees (baouri, yellow mombin, cajul, ohiohá, mangaba, outard apple and capuoaia trees); 6. Document the genetic resources of native fruit trees in the Brazil Mid-North region. The Native Fruit Trees Genebanks of Embrapa Mid-North were implemented in 1988, at the Experimental Field of Teresina, Piauí, Brazil, being carried out the introduction of samples of 77

ANEXO F – Continuação.

Palavra(s)-chave:	accesses of baouri, 38 of yellow mombin, 37 of cajul, 14 of ohlohá, 39 of mangaba, 32 of oustard apple and 23 of capuoaia in the genebanks. The accessions are characterized by morphological, agronomic, ecophysiological, physicochemical and molecular descriptors by RAPD and microsatellites. No technological products were generated for commercialization.
Palavra(s)-chave em inglês:	baouri, cajá, cajul, ohlohá, mangaba, pinha, capuoaia, banco de germoplasma, descriptors, accessos
Período das Atividades:	baouri, cajá, cajul, ohlohá, mangaba, pinha, capuoaia, germoplasma bank, descriptors, accessos 01/01/2000 Ainda não iniciado ou em execução

Equipe			
Nome Completo	Documento	Instituição	Nacionalidade
Humberto Umbelino de Sousa	***.553.304-**	Embrapa	Brasil
LÚCIO FLAVO LOPES VASCONCELOS	***.990.543-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
EUGÊNIO CELSO EMÉRITO ARAÚJO	***.793.993-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
MARCOS EMANUEL DA COSTA VEIGA	***.400.343-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
PAULO SARMANHO DA COSTA LIMA	***.464.242-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
VALDENIR QUEIROZ RIBEIRO	***.015.013-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
Maria Cláudia Cabral Maia	***.303.963-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
Josué Francisco da Silva Junior	***.840.104-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
ARTEMISA NAZARÉ COSTA BORGES	***.588.143-**	UFPE	Brasil
VALDOMIRO AURÉLIO BARBOSA DE ALMEIDA	***.171.542-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
CARLOS CÉSAR PEREIRA NOGUEIRA	***.875.944-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil
FRANCISCO DAS CHAGAS OLIVEIRA	***.428.673-**	Brasileira de Pesquisa Agropecuária	Brasil

ANEXO F – Continuação.

MÔNICA DE SOUSA	***.497.003-**	UESPI	Brasil
RAUL FERREIRA DE MIRANDA ME	***.716.933-**	UESPI	Brasil
REGINA LÚCIA FERREIRA GOMES	***.852.503-**	UFPI	Brasil
RENATO SANTOS ROCHA	***.812.503-**	UFPI	Brasil
SÉRGIO EMÍLIO DOS SANTOS VAL	***.575.178-**	UFPI	Brasil
SULIMARY OLIVEIRA GOMES MOR	***.284.263-**	UFPI	Brasil
ROSSANA BORGES DA SILVA	***.815.033-**	CNPq	Brasil
TAMIRIS JOANA DOS SANTOS RÉD	***.047.763-**	CNPq	Brasil
FERNANDA DEMOLINER	***.085.010-**	UFSC	Brasil
JANE MARA BLOCK	***.767.659-**	UFSC	Brasil

Sobre o Componente do Patrimônio Genético Acessado

O acesso ao patrimônio genético será realizado em área indispensável à segurança nacional ou águas jurisdicionais brasileiras, plataforma continental e zona econômica exclusiva:

Não

Tipo de Componente: Flora (exoto algas)
 Nome Científico: *Platonia insignis*
 Reino: Plantae
 Filo/Divisão: MAGNOLIOPHYTA
 Classe: MAGNOLIOPSIDA
 Ordem: THEALES
 Família: CLUSIACEAE
 Nome(s) popular(es): baouri

ANEXO F – Continuação.

Trata-se de variedade tradicional local ou crioula ou raça localmente adaptada ou crioula?

Não

Sobre a Proveniência Do Patrimônio Genético

Procedência da amostra:	Ex situ
Tipo de fonte ex situ:	Outras coleções ex situ
Instituição mantenedora da Coleção:	Embrapa Melo-Norte
Nome da Coleção:	Banco Ativo de Germoplasma de Frutíferas Nativas da Embrapa Meio-N
UF:	PI
Município:	Teresina
Latitude:	6° 5' 21" S
Longitude:	42° 48' 8" W
Bioma:	Cerrado
Data da coleta	08/04/2018
Procedência da amostra:	Ex situ
Tipo de fonte ex situ:	Outras coleções ex situ
Instituição mantenedora da Coleção:	Embrapa Melo-Norte
Nome da Coleção:	Banco Ativo de Germoplasma de Frutíferas Nativas da Embrapa Meio-N
UF:	PI
Município:	Teresina
Latitude:	6° 5' 21" S
Longitude:	42° 48' 8" W
Bioma:	Cerrado
Data da coleta	08/04/2017
Procedência da amostra:	Ex situ
Tipo de fonte ex situ:	Outras coleções ex situ
Instituição mantenedora da Coleção:	Embrapa Melo-Norte
Nome da Coleção:	Banco Ativo de Germoplasma de Frutíferas Nativas da Embrapa Meio-N
UF:	PI
Município:	Teresina
Latitude:	6° 5' 21" S
Longitude:	42° 48' 8" W
Bioma:	Cerrado
Data da coleta	08/04/2018
Procedência da amostra:	Ex situ
Tipo de fonte ex situ:	Outras coleções ex situ
Instituição mantenedora da Coleção:	Embrapa Melo-Norte
Nome da Coleção:	Banco Ativo de Germoplasma de Frutíferas Nativas da Embrapa Meio-N
UF:	PI
Município:	Teresina
Latitude:	6° 5' 21" S
Longitude:	42° 48' 8" W

Data do Cadastro: 06/11/2018 12:50:31

Situação do Cadastro: Concluído



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 12:58 de 06/11/2018.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - SISGEN