



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE BIOLOGIA E QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEO DE CASTANHA-DO-PARÁ EM RATAS**  
**PRENHAS E SUA PROLE, DURANTE A GESTAÇÃO E A LACTAÇÃO**

**DIOGO LEONARDO SANTOS SILVA**

Cuité, PB  
2021

DIOGO LEONARDO SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEO DE CASTANHA-DO-PARÁ EM RATAS  
PRENHAS E SUA PROLE, DURANTE A GESTAÇÃO E A LACTAÇÃO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de  
Educação e Saúde, campus Cuité, como requisito  
para obtenção do título de Licenciado em Ciências  
Biológicas.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Gláucia Veríssimo  
Faheina Martins

Cuité, PB

2021

S586a Silva, Diogo Leonardo Santos.

Avaliação da toxicidade do óleo de castanha-do-pará em ratas prenhas e sua prole, durante a gestação e a lactação . / Diogo Leonardo Santos Silva. - Cuité, 2021.

48 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2021.

"Orientação: Profa. Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins".

Referências.

1. Castanha-do-pará. 2. Castanha-do-pará - toxicidade. 3. Castanha-do-pará - óleo vegetal. 4. Ácidos graxos. I. Martins, Glaucia Veríssimo Faheina. II. Título.

CDU 634.575(043)

DIOGO LEONARDO SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEO DE CASTANHA-DO-PARÁ EM RATAS  
PRENHAS E SUA PROLE, DURANTE A GESTAÇÃO E A LACTAÇÃO**

Aprovada em: 27 / 09/ 2021

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins (UAS/CES/UFCG)  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Flávia Negromonte Souto Maior (UAS/CES/UFCG)  
Membro

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Mayara Queiroga Estrela Abrantes Barbosa (UAS/CES/UFCG)  
Membro

Cuité, PB

2021

Dedico,

A Deus, aos meus professores, e à minha família.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo milagre da vida e por me dar a coragem e a força necessária para lutar pelos meus objetivos.

Ao Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, pelas oportunidades acadêmicas e científicas.

À minha orientadora, a Professora Doutora Glaucia Veríssimo Faheina Martins, por todas as suas sábias orientações e incentivos durante estes últimos anos, desde a monitoria, e atualmente pela orientação durante a Iniciação Científica que culminou na elaboração desta monografia.

À banca examinadora composta pela Professora Dra. Flávia Negromonte Souto Maior e pela Professora Dra. Mayara Queiroga Estrela Abrantes Barbosa, por suas grandes contribuições para o aprimoramento desta pesquisa.

A todos os docentes do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas por todas as suas contribuições para meu aprimoramento intelectual e profissional durante toda a minha trajetória nestes anos de curso.

Aos programas de Iniciação Científica e Monitoria por fornecer as condições acadêmicas que contribuíram significativamente na minha capacitação profissional e científica.

Ao Laboratório de Ensaio Toxicológicos e Genética do Câncer (TOXGEN), coordenado pela minha orientadora, por todo o acolhimento e oportunidades que me forneceu durante estes últimos três anos.

Ao Laboratório de Biologia de Anuros (LABAN), coordenado pelo Professor Dr. Márcio Frazão Chaves, e ao Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX), coordenado pela Professora Doutora Juliana Kessia Barbosa Soares, por cederem o espaço físico e os equipamentos necessários para a realização desta pesquisa.

Ao Dr. Arthur Cássio de Lima Luna pelo auxílio em partes das análises histológicas.

À Doutoranda Larissa Maria Gomes Dutra, pela indispensável parceria que possibilitaram e viabilizaram a realização deste projeto.

Ao Mestrando Alexandre Pereira Dantas, pelo treinamento e dicas com o processamento das amostras histológicas.

Aos técnicos de laboratório e aos demais funcionários terceirizados pelos serviços essenciais de manutenção do campus, principalmente nos laboratórios, em especial a Jaciel Galdino pelo fornecimento das águas destiladas.

À minha mãe Rosa de Lima, por todo apoio, incentivo, dedicação, orações e esforço para que eu atingisse meus objetivos.

Às minhas tias Noemia Oliveira e Maria Das Dores, à minha madrinha Vanuza Silva e ao meu padrinho Eduardo Vieira, pelo apoio, carinho e incentivo que me deram desde que eu era criança.

Aos meus amigos e colegas instituição: Letícia de Oliveira, Alison Pontes, André Alan, Josefa Eucliza, Kádla Jorceli e Rafaela Maria, pelo apoio e amizade. Além disso, pelas parcerias na escrita científica.

Aos meus amigos e colegas de curso: Elizângela Soares, Richard Tarcísio, Joana Larissa, Emília Aniely, Mayara Islaine, Kelvin Dantas, e Éricka Arcoverde, pelos obstáculos que superamos juntos durante o curso.

Às minhas colegas de laboratório: Jaísia Medeiros, Samira Maria e Sabrina Germano, por me auxiliarem em algumas etapas do projeto.

Agradeço também a todas as demais pessoas que contribuíram de modo direto ou indireto para a realização deste estudo.

“Tu que habitas a proteção do altíssimo,.....  
..... não temerás a flecha que voa à luz do dia,  
nem a peste que se propaga nas trevas....”

(SALMOS 90:1,5,6)



## RESUMO

As castanhas-do-Pará, obtidas a partir do fruto da *Bertholletia excelsa*, são amplamente consumidas no mundo, devido aos benefícios que promovem na saúde. Contudo, não é relatado na literatura os possíveis potenciais toxicológicos do consumo deste produto e seus derivados. Diante disso, foi objetivo deste trabalho analisar o potencial toxicológico em diferentes órgãos de ratas prenhas e sua prole após a ingestão do óleo de castanha-do-Pará bruto e refinado, durante a gestação e lactação. Metodologicamente, foram utilizados ratos *Wistar* como modelos experimentais. Nestes animais, foram administrados os seguintes compostos durante a gestação e a lactação: água destilada (grupo controle), 3 ml/kg de óleo bruto ou 3 ml/kg de óleo refinado. Após o período de tratamento, os animais foram eutanasiados e os órgãos (cérebro, fígado e intestino) foram coletados para realização da análise histológica e morfometria. Foi possível observar que o óleo bruto afetou histologicamente o cérebro dos filhotes machos, o fígado das ratas progenitoras e da prole. Além disso, o óleo bruto afetou morfometricamente a altura dos enterócitos das ratas progenitoras e da prole. Por sua vez, o óleo refinado afetou histologicamente o cérebro das filhotes fêmeas, bem como alterou morfometricamente o intestino das ratas progenitoras e das filhotes fêmeas. Diante disso, conclui-se que, 3ml/kg de óleo de castanha-do-Pará provocou toxicidade em alguns órgãos em modelos experimentais de rato. Com isso, sugere-se que novos estudos são necessários, visando compreender melhor o potencial tóxico do óleo de castanha-do-Pará em outros modelos animais e o uso seguro em humanos.

**Palavras-chave:** Óleo vegetal; Ácidos graxos; Histologia; Morfometria; Toxicologia.

## ABSTRACT

Brazil nuts, obtained from the fruit of *Bertholletia excelsa*, are widely consumed around the world due to their health benefits. However, the possible toxicological potentials of the consumption of this product and its derivatives are not reported in the literature. Therefore, the objective of this study was to analyze the toxicological potential in different organs of pregnant rats and their offspring after ingestion of crude and refined Brazil nut oil, during pregnancy and lactation. Methodologically, *Wistar* rats were used as experimental models. In these animals, the following compounds were administered during pregnancy and lactation: distilled water (control group), 3 ml/kg of crude oil or 3 ml/kg of refined oil. After the treatment period, the animals were euthanized and the organs (brain, liver and intestine) were collected for histological and morphometric analysis. It was possible to observe that the crude oil affected histologically the brain of male offspring, the liver of the mother rats and offspring. Furthermore, the crude oil morphometrically affected the height of the enterocytes of the parent rats and offspring. In turn, the refined oil histologically affected the brain of female offspring, as well as morphometrically altered the intestine of parent rats and female offspring. Therefore, it is concluded that 3ml/kg of Brazil nut oil caused toxicity in some organs in experimental rat models. Thus, it is suggested that further studies are needed, in order to better understand the toxic potential of Brazil nut oil in other animal models and its safe use in humans.

**Keywords:** Vegetable oil; Fatty acids; Histopathology; Morphometry; Toxicology.

## LISTA DE TABELAS

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Tabela 1.</b> | Ácidos graxos presentes nos óleos de CP  | 26 |
| <b>Tabela 2.</b> | Avaliação histológica das lâminas de cérebro de ratas fêmeas e sua prole após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação.    | 30 |
| <b>Tabela 3.</b> | Avaliação histológica das lâminas de fígado de ratas fêmeas e sua prole, após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação.    | 32 |
| <b>Tabela 4.</b> | Avaliação histológica das lâminas do intestino de ratas fêmeas e sua prole, após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação. | 34 |

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**AG – Ácido graxo / Ácidos graxos**

**CP – Castanha-do-Pará**

**CT - Controle**

**LANEX– Laboratório de Nutrição Experimental**

**MUFA – Ácidos graxos monossaturados**

**OB – Óleo bruto**

**OR – Óleo refinado**

**PUFA – Ácidos graxos poli-insaturados**

**Se - Selênio**

**SFA – Ácidos graxos saturados**

## LISTA DE FIGURAS

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figura 1.</b> | Castanheira-do-Pará  | 15 |
| <b>Figura 2.</b> | Ouriços e castanhas-do-Pará  | 17 |
| <b>Figura 3.</b> | Estimativa da altura do epitélio intestinal  | 29 |
| <b>Figura 4.</b> | Fotomicrografias das alterações identificadas nas análises histológicas do cérebro de ratas fêmeas e sua prole após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação | 31 |
| <b>Figura 5.</b> | Fotomicrografias das alterações identificadas nas análises histológicas do fígado de ratas fêmeas e sua prole após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação. | 33 |
| <b>Figura 6.</b> | Fotomicrografia representativa do intestino de animais com ausência de alterações histológicas.  | 34 |
| <b>Figura 7.</b> | Avaliação da morfometria da altura dos enterócitos de ratas prenhas e sua prole tratadas com óleo de castanha-do-Pará durante a gestação e lactação  | 35 |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>13</b> |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>   | <b>15</b> |
| <b>2.1 BIOLOGIA DA CASTANHEIRA.....</b>   | <b>15</b> |
| <b>2.2 CASTANHA-DO-PARÁ.....</b>  | <b>17</b> |
| <b>2.3 IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DAS CASTANHAS.....</b>  | <b>18</b> |
| <b>2.4 ÓLEO DE CASTANHAS.....</b>   | <b>19</b> |
| <b>2.5 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E BENEFÍCIOS DO ÓLEO DE CASTANHA-<br/>DO-PARÁ PARA A SAÚDE.....</b> | <b>19</b> |
| <b>2.6 GESTAÇÃO E LACTAÇÃO.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>2.7 A IMPORTÂNCIA DA TOXICOLOGIA DE PLANTAS.....</b>   | <b>23</b> |
| <b>3 OBJETIVOS.....</b>   | <b>24</b> |
| <b>3.1 GERAL.....</b>   | <b>24</b> |
| <b>3.2 ESPECÍFICOS.....</b>   | <b>24</b> |
| <b>4 METODOLOGIA.....</b>   | <b>25</b> |
| <b>4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E LOCAL DE REALIZAÇÃO.....</b>                                      | <b>25</b> |
| <b>4.2 ÓLEO DE CASTANHA-DO-PARÁ.....</b>  | <b>25</b> |
| <b>4.3 ENSAIO BIOLÓGICO.....</b>  | <b>26</b> |
| <b>4.4 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS.....</b>   | <b>27</b> |
| <b>4.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA HISTOLOGIA.....</b>  | <b>27</b> |
| <b>4.6 ANÁLISES DAS LÂMINAS.....</b>  | <b>28</b> |
| <b>4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....</b>   | <b>29</b> |
| <b>5 RESULTADOS.....</b>  | <b>30</b> |
| <b>5.1 ANÁLISES HISTOLÓGICAS.....</b>   | <b>30</b> |
| 5.1.1 CÉREBRO.....  | 30        |
| 5.1.2 FÍGADO.....   | 31        |
| 5.1.3 INTESTINO.....  | 34        |
| <b>5.2 MORFOMETRIA DO EPITÉLIO INTESTINAL.....</b>  | <b>35</b> |
| <b>6 DISCUSSÃO.....</b>   | <b>36</b> |
| <b>7 CONCLUSÕES.....</b>  | <b>39</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>39</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A família botânica Lecythidaceae abrange aproximadamente 300 espécies, sendo estas distribuídas em 25 gêneros. No território brasileiro podem ser encontradas aproximadamente 120 espécies, agrupadas em 10 gêneros. Além disso, a região amazônica concentra a maior diversidade desta família em comparação com outros locais do país (CRUZ *et al.*, 2021). Referente ao grande potencial econômico, a principal espécie de Lecythidaceae é a castanheira-do-Pará (*Bertholletia excelsa* Humboldt & Bonpland), também conhecida por castanheira-do-Brasil ou simplesmente castanheira (DOS SANTOS *et al.*, 2006).

O fruto da *Bertholletia excelsa* refere-se ao ouriço, uma grande estrutura capsular que, em seu interior armazenam as castanhas-do-Pará (CP), cada uma com uma casca individualizada. Uma castanheira-do-Pará pode originar aproximadamente 300 ouriços, sendo que cada um destes frutos pode conter em seu interior de 08 a 26 castanhas. (LEANDRO *et al.*, 2019).

As castanhas são consumidas não apenas na América, como também em outros continentes como a Ásia e a Europa (DE PAIVA SALOMÃO, 2014). Estima-se que no ano de 2015, a região Norte do Brasil produziu mais de 40 toneladas de CP (COELHO *et al.*, 2017). A extração deste produto natural caracteriza alto potencial econômico da espécie em nível internacional (RAMALHO *et al.*, 2016).

As amêndoas obtidas da castanha são de grande valor para o setor industrial devido, principalmente, a extração de óleo (DOS SANTOS *et al.*, 2006). Esta substância é utilizada na indústria de cosméticos e dermacêuticas, devido às propriedades dos óleos extraídos das castanhas, como por exemplo, emoliente, nutritiva, bem como lubrificante (BALBI *et al.*, 2014).

Nas castanhas-do-Pará podem ser encontradas proteínas de grande importância biológica, representando de 15 a 20% da constituição da castanha. Devido à quantidade e a qualidade dos aminoácidos encontrados, como por exemplo, a metionina e cisteína, as amêndoas da castanha são consideradas como uma fonte abundante de proteínas vegetais. As castanhas apresentam aproximadamente 70% de lipídeos em sua constituição. Além disso, fazem parte de sua constituição elementos como selênio (Se) e antioxidantes (DA CRUZ PINHEIRO, 2013).

O consumo das CP promove benefícios para a saúde, atuando na prevenção de inúmeras doenças e outras complicações fisiológicas. Dentre estes benefícios conhecidos estão o controle do peso corporal, prevenção de neoplasias malignas, diminuição dos riscos de

desenvolvimento de doenças cardiovasculares e redução dos níveis de colesterol no organismo (SILVA *et al.*, 2020).

O processo de refinamentos dos óleos vegetais consiste nas seguintes etapas: neutralização dos ácidos graxos (AG) livres, clarificação (remoção de impurezas do óleo) e desodorização (remoção de compostos voláteis) (D'ARCE, 2006). Óleos vegetais poli-insaturados obtidos de sementes como milho, soja e canola são elementos amplamente consumidos na alimentação humana. Para estarem aptos a serem incluídos na dieta humana é necessário que os óleos vegetais poli-insaturados sejam submetidos ao processo de refinamento, com o propósito de remover componentes indesejados como AG livres, odores e sabores (AUED-PIMENTEL *et al.*, 2009). Nesta perspectiva, referente ao óleo de CP julga-se fundamental avaliar se o processo de refinamento impediu possíveis efeitos tóxicos.

O estudo realizado por Chunhieng e colaboradores (2008) identificou que o óleo bruto (OB) extraído da farinha de castanha-do-Pará possui o ácido oleico em quantidade majoritária (39%), seguida pelo ácido linoleico (36%), ácido palmítico (13%), ácido esteárico (11%). O óleo refinado (OR) de CP utilizado no estudo de Mori (2018) apresentou maior concentração de ácido linoléico (32-42%), seguidos pelo ácido oleico (31-41%), ácido palmítico (12-16%), ácido esteárico (09-13%).

A gestação é um período de mudanças fisiológicas no organismo materno. Neste período, a alimentação é um dos fatores que podem influenciar a formação fetal. Dietas com óleos e gorduras com elevado teor de ômega-6 e baixo teor de ômega-3 são consideradas inadequadas durante o período gestacional (DOS SANTOS *et al.*, 2018). No tocante ao sistema nervoso, a sua formação estendesse do período gestacional aos primórdios da vida extrauterina, sendo que alguns AG são fundamentais neste processo. Contudo, o consumo excessivo de alguns AG restringe a disponibilidade de outros ácidos graxos, resultando em complicações aos neonatos (RANGEL, 2014).

Durante a gestação, o transporte de AG essenciais da progenitora ao feto ocorre pela via placentária, acumulando-se no cérebro, bem como na retina do concepto (DA SILVA; MIRANDA JÚNIOR; DE ABREU SOARES, 2007). Referente à lactação, os AG do leite materno são originados a partir da biossíntese na glândula, bem como da coleta destas moléculas do plasma materno. Ambos os mecanismos de obtenção de AG para a síntese do leite são influenciados pela nutrição da progenitora (INNIS, 2014).

Diante do exposto, é notória a importância para a saúde do consumo das castanhas e possivelmente de seus derivados, dentre os quais está o óleo de castanhas. Entretanto, não há



relato na literatura sobre possíveis potenciais toxicológicos desta substância. Com isso, julga-se necessária a realização deste presente estudo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 BIOLOGIA DA CASTANHEIRA-DO-PARÁ

A *Bertholletia excelsa* (figura 1) trata-se de uma formação vegetal arbórea que apresenta grande porte, podendo atingir até 60 metros de altura. A castanheira-do-Pará apresenta também tronco escuro e liso, flores brancas, bem como o ouriço (fruto) que armazena as sementes (castanhas) (DE SOUZA FERREIRA *et al.*, 2006). Apresenta também grande copa emergente, fuste retilíneo (COSTA *et al.*, 2009), bem como base do tronco medindo até 04 metros de diâmetro (HOMMA; DE MENEZES, 2008).

**Figura 1.** Castanheira-do-Pará.



Fonte: KERN (Embrapa), 2010

Referente ao substrato, a *B. excelsa* pode ser encontrada em solos pobres, não alagados e argilosos ou argilo-arenosos. Além disso, a castanheira-do-Pará possui grande adaptação às

áreas de terras firmes e elevadas. Em relação ao clima, a castanheira pode ser encontrada em áreas de clima quente e úmido. Alguns parâmetros climáticos estão associados com maior ocorrência da espécie, como por exemplo, áreas de clima tropical chuvoso, com média de precipitação entre 1500 a 2800 mm/ano, e com ausência de períodos desregulados de estiagem (NOGUEIRA; DE SANTANA, 2018). Contudo, a castanheira também pode ser encontrada em áreas onde ocorrem chuvas com frequências (MÜLLER *et al.*, 1995). Geralmente, no Brasil, esta espécie é encontrada formando agrupamentos de castanheira-do-Pará conhecidos por castanhais, sendo que esta aglomeração vegetal é composta de 15 a 20 castanheiras por hectare (SILVA *et al.*, 2013).

A *Bertholletia excelsa* pode ser encontrada em uma ampla faixa territorial da América do Sul Brasil. Sua ocorrência se dá na Amazônia Brasileira, na Venezuela, na Colômbia, no Peru, bem como no Equador (LEANDRO *et al.*, 2019). No território brasileiro, a CTR pode ser encontrada em vários estados do país, tais como, Pará, Amazonas, Acre, Maranhão, Rondônia, Mato Grosso, Amapá e Roraima (RAMALHO *et al.*, 2016).

Em relação à frutificação da castanheira, este processo fisiológico da espécie tende a ocorrer a partir de 08 a 10 anos de idade da planta. Contudo, há relatos de frutificação da castanheira que ocorreram a partir dos 20 anos de idade. Uma vez que a árvore chegou à fase adulta, anualmente pode produzir até 500 kg de frutos. O intervalo de tempo da queda das flores até o amadurecimento dos frutos corresponde a quinze meses (ALMEIDA, 2015).

Para que ocorra a produção dos frutos, a castanheira-do-Pará depende das interações ecológicas com agentes polinizadores, principalmente abelhas de médio e grande porte (TONINI; DA COSTA; KAMINSKI, 2008). Já em relação à dispersão por sementes, sabe-se que, as cutias, roedores terrestres, são os principais agentes que promovem esta disseminação (JORGE; PERES, 2005).

O fruto da *B. excelsa* ou ouriço (figura 2), como é denominado popularmente, trata-se de uma cápsula indeiscente, esférica e lignificada, podendo ultrapassar um pouco mais de 1 kg de peso (BALBI *et al.*, 2014), pode medir até 16 cm de diâmetro, e morfológicamente, o ouriço é semelhante a um coco. Para a coleta do ouriço, é necessário que ocorra a queda deste fruto da árvore quando se tornam maduros, e posteriormente, no solo, são coletados. Dentro deste fruto, são encontradas de 10 a 25 castanhas-do-Pará (sementes) (ALMEIDA, 2015).

**Figura 2.** Ouriços e castanhas-do-Pará.



Fonte: SULEIMAN (Embrapa), 2013.

## 2.2 CASTANHA DO PARÁ

As castanhas-do-Pará são sementes com formato triangular-angulosas, podendo medir de 4 a 7 cm de comprimento. Além disso, estas sementes são envolvidas por uma casca rígida e rugosa. As sementes correspondem a 25% do peso total do ouriço e sem a casca (amêndoas) representam 13% deste peso. Individualmente, cada CP possui peso médio equivalente a 8,2 g (MÜLLER *et al.*, 1995).

Devido às suas propriedades nutricionais, em especial um alto teor de proteínas contidas nas castanhas-do-Pará, a este produto foi atribuído o termo “carne vegetal”. Além disso, sabe-se que, as proteínas contidas nas castanhas são ricas em aminoácidos essenciais (ALMEIDA, 2015). Estudos apontam que a quantidade de proteínas ingeridas a partir do consumo de 02 amêndoas de castanha é equivalente ao consumo de um ovo (MÜLLER *et al.*, 1995).

As amêndoas obtidas das castanhas-do-Pará possuem, além do alto teor proteico, um alto valor energético (DA SILVA; PONTES; ALBUQUERQUE, 2020), uma vez que estas sementes contém um elevado teor de lipídeos (DA CUNHA BRITO, 2015). Embora a maior parte da produção das CP seja destinada ao consumo *in natura*, a partir destas sementes

podem ser obtidos óleos, bem como os resíduos gerados por seu processo de extração, conhecidos como torta. Estes resíduos podem ser aplicados no preparo de alimentos, tendo em vista seu grande valor nutricional (DA GLÓRIA; REGITANO-D'ARCE, 2000).

### 2.3 IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DAS CASTANHAS

As castanhas-do-Pará são consideradas como um dos produtos não madeireiros de maiores importância obtidos da Amazônia no que se refere a potencial econômico (SCOLES; GRIBEL; KLEIN, 2011). A castanheira-do-Pará é uma das principais espécies com potencial econômico resultante da atividade extrativista nesta região (NOGUEIRA; DE SANTANA, 2018). A partir da *Bertholletia excelsa* são obtidas fontes de renda e alimentos há vários anos (COSTA *et al.*, 2009). A atividade extrativista das amêndoas obtidas das castanhas é responsável por fornecer o sustento de várias comunidades residentes nesta área (SILVA *et al.*, 2013).

No cenário brasileiro, as castanhas é um dos produtos mais exportado para outros países. A coleta deste produto geralmente se estende de novembro a março ou abril (SILVA *et al.*, 2020). As castanhas-do-Pará são as únicas sementes coletadas diretamente das áreas florestais que ganharam destaque no mercado internacional (SCOLES; GRIBEL; KLEIN, 2011). O consumo deste produto é potencializado devido à caracterização deste produto como alimento funcional (COSTA; TONINI; MENDES FILHO, 2017).

Embora a Bolívia seja o maior exportador de Castanhas-do-Pará no cenário internacional, a maior concentração das plantações está localizada na região amazônica brasileira (DE FREITAS *et al.*, 2021b). No cenário nacional, estima-se que foram produzidas em 2015 aproximadamente 40 toneladas de castanhas. Além disso, mesmo com a redução da produção que ocorreu após 2015, foi estimado que em 2019 a produção atingiu aproximadamente 33 toneladas, estimada no valor de cerca de 135 mil reais (IBGE, 2019).

Embora o Brasil seja um dos países que mais produzem e exportam castanhas no mundo (DA SILVA; PONTES; ALBUQUERQUE, 2020), grande parte da população não conhece o real valor nutricional e industrial destas sementes. As castanhas geralmente são exportadas para Alemanha, Inglaterra e Estados Unidos, países estes que possuem conhecimento do grande potencial nutricional e econômico oriundos deste produto (KATO *et al.*, 2016).

## 2.4 ÓLEO DE CASTANHAS

Os óleos vegetais são resultantes da mistura de compostos derivados de glicerol. Além disso, apresentam AG com cadeias carbônicas contendo de 8 a 24 átomos. Este tipo de produto natural possui grande potencial econômico, uma vez que pode ser empregado em vários setores industriais, como por exemplo, alimentício, farmacêutico, bem como de cosmético. Contudo, a qualidade, a funcionalidade, bem como o custo final do produto, está interligado ao processo de refinamento ao qual o óleo bruto é submetido. O processo de refinamento dos óleos vegetais tem o objetivo de promover a remoção de impurezas e AG livres contidos neste produto (DA CUNHA BRITO, 2015).

Os óleos de origem vegetal também são ricos em compostos energéticos, bem como em ácidos graxos essenciais. Dentre uma das funções importantes que tais substâncias desempenham no organismo, pode ser destacada o transporte de vitaminas lipossolúveis (MENDES *et al.*, 2012).

O óleo das castanhas-do-Pará caracteriza-se por possuir elevado valor nutricional (KATO *et al.*, 2016). Para a obtenção deste derivado, utiliza-se a técnica de prensagem das castanhas. O óleo obtido é caracterizado por seu alto teor lipídico, sua coloração (amarela, clara e transparente), pela ausência de cheiros, bem como por seu sabor doce. Devido isto, este produto de origem vegetal possui aplicabilidades em diversos setores da economia, como por exemplo, a indústria farmacêutica, cosmética, além de poder se empregado na culinária (CONTE, 2010).

De Souza Ferreira e colaboradores (2006) caracterizaram em seu estudo o teor de AG presentes no óleo bruto de castanhas-do-Pará. Os autores encontraram majoritariamente o ácido oleico (51%) na composição do óleo. Além disso, outros componentes foram identificados no óleo, tais como o ácido linoléico (34%), o ácido palmítico (13%), e outros ácidos graxos (2%), na composição do óleo bruto. Além do teor de AG contidos no óleo de castanhas-do-Pará sabe-se que este produto natural também apresenta outros componentes, tais como: vitamina A, vitamina E, bem como fitoesteróis (COSTA E SILVA *et al.*, 2020).

## 2.5 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E BENEFÍCIOS DO ÓLEO DE CASTANHA-DO-PARÁ PARA A SAÚDE

O estudo realizado por Ryan e colaboradores (2006) evidenciou que aproximadamente 45% dos AG nas castanhas-do-Pará são poli-insaturados. Os autores também identificaram

que dentre este tipo de ácido graxo o ácido linoleico era mais abundante. Além disso, foram encontrados ácidos linolênicos, mesmo que em menor quantidade. O consumo dos PUFA de cadeias muito longas é recomendado durante diversas fases da vida, como por exemplo, gestacional, pós-natal, na terceira idade, bem como em casos de doenças neurodegenerativas. O ácido linoleico (ômega-6) e o ácido linolênico (ômega-3) são AG essenciais que promovem o funcionamento adequado das membranas biológicas, cérebro, bem como da transmissão do impulso nervoso. Estes dois tipos de AG participam de outros processos biológicos, como a síntese de hemoglobina e da divisão celular. (MARTIN *et al.*, 2006).

Os AG poli-insaturados (PUFA) também determinam a intensidade do processo inflamatório através da incorporação destas substâncias à membrana das células do sistema imunológico, onde o ômega-3 e o ômega-6 são moléculas atuam como agentes inibidores da resposta imunológica, sendo que esta última também é um agente estimulador (DE LIMA PERINI *et al.*, 2010). O ácido linoleico, pertencente ao grupo do ômega-6, é precursor do ácido araquidônico (RETT; WHELAN, 2011), uma molécula que faz-se essencial para as membranas de células envolvidas no processo inflamatório, bem como é precursor de potentes moléculas pró-inflamatórias como prostaglandinas e leucotrienos (INNES; CALDER, 2018). O ômega-3 por sua vez possui propriedades anti-inflamatórias, reduzindo a quimiotaxia de neutrófilos e monócitos, bem como a adesão de leucócitos às células endoteliais. Além disso, sabe-se que o ômega-3 está associado com alteração da síntese de moléculas inflamatórias como as citocinas e quimiocinas (CALDER, 2010).

As castanhas são produtos naturais que apresentam também ácido oleico (ômega-9), que junto do ômega-6, são moléculas fundamentais para a formação e manutenção das barreiras cutâneas, em especial para os processos de cicatrização da pele (DE FREITAS *et al.*, 2021a). O ácido oleico também é fundamental para alguns processos fisiológicos relacionados ao metabolismo, em especial para a síntese de hormônios (MENDES *et al.*, 2012).

O selênio, uma substância com propriedades antioxidantes, presente em abundância nas castanhas é fundamental para a profilaxia do câncer (BALBI *et al.*, 2014). Esta substância também participada prevenção da cardiomiopatia endêmica e da artrite deformante. O Se possui propriedades antioxidantes, participa da síntese de hormônios tireoidianos, bem como no controle da resposta imunológica. Além disso, este nutriente é importante para combater o efeito de substâncias nocivas, como por exemplo, os metais pesados (PINHEIRO *et al.*, 2019). Estima-se que a castanha apresente níveis de até 513  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de Se (DE FREITAS *et al.*, 2008).

A ação antioxidante do selênio promove proteção das células contra os danos provocados por radicais livres. O Se é fundamental para a composição da enzima glutathione peroxidase, sendo esta molécula é responsável por impedir a ocorrência de acúmulos de peróxidos, considerados como fontes de radicais livres. Na ausência desta proteção, os radicais livres podem causar degradação da membrana e de outros componentes (PINHEIRO *et al.*, 2019).

Além dos lipídeos, AG poli-insaturados e proteínas de grande valor biológico, outros componentes também podem ser encontrados na castanha-do-Brasil são o cálcio, fósforo, magnésio, e vitaminas do complexo B (DE SOUZA FERREIRA *et al.*, 2006). O cálcio é o mineral mais abundante do organismo humano, sendo indispensável para o crescimento e manutenção óssea, bem como na prevenção da osteoporose (PREMAOR; BRONDANI, 2016).

O magnésio é um dos cátions com maiores concentrações dentro das células, sendo indispensável para a ocorrência de mais de 300 reações enzimáticas conhecidas no organismo, bem como atua como componente de diversas enzimas relacionadas com o metabolismo de várias classes de moléculas, como carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. O magnésio atua também na prevenção de doenças cardiovasculares (RAMIREZ, 2016), na manutenção óssea (PREMAOR; BRONDANI, 2016), bem como na regulação hormonal e imunológica (BATISTA *et al.*, 2016).

O fósforo é considerado como um das substâncias mais importante, tendo em vista que participa de diversos processos fisiológicos no organismo, como por exemplo, a formação e mineralização da matriz óssea, síntese de ácidos nucleicos, como componente de moléculas de armazenamento de energia, bem como metabolismo de lipídeos (BATISTA *et al.*, 2016).

O complexo B são vitaminas hidrossolúveis que geralmente não são armazenadas em níveis necessários para o bom funcionamento do organismo, resultando na necessidade da ingestão diária destas substâncias. Algumas vitaminas do complexo B participam como componentes cofatores de várias enzimas, no metabolismo, bem como na síntese de ácidos nucleicos (RUBERT *et al.*, 2017).

## **2.6 GESTAÇÃO E LACTAÇÃO**

A gestação refere-se ao período intrauterino de desenvolvimento de um indivíduo, correspondente ao intervalo temporal entre a concepção e o nascimento (BORSON *et al.*, 2019). Para promoção de troca de substâncias entre a progenitora e a prole, vertebrados

vivíparos possui uma estrutura membranosa conhecida por placenta. Tal estrutura torna-se essencial durante a gestação, uma vez que restringe o contato do sangue materno e do sangue fetal a uma rede de capilares sanguíneos (BROLIO *et al.*, 2010).

A placenta é um órgão materno-fetal responsável pela troca de substância, em especial nutrientes, entre a progenitora e o conceito. A membrana placentária, às vezes é equivocadamente denominada de barreira placentária, atua separando o sangue materno e o sangue fetal a fim de restringir a passagem de algumas substâncias inapropriadas. Contudo, muitos agentes nocivos, conhecidos como teratógenos, conseguem ultrapassar a restrição imposta pela membrana placentária e conseqüentemente causar má formação fetal, como por exemplo, algumas drogas e outros compostos químicos, bem como agentes biológicos (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2016).

Efeitos teratogênicos são considerados os principais motivos de preocupação gerada a partir do uso de plantas com propriedades medicinais, uma vez que alguns compostos presentes nestas plantas podem atravessar a proteção da placenta e chegar ao feto. Embora alterações promovidas por teratógenos sobre o conceito possam ocorrer durante todo o período gestacional, estas são mais preocupantes durante a embriogênese, etapa esta de diferenciação e formação de tecidos e órgãos. Devido as possíveis complicações do uso indiscriminado de plantas medicinais durante a gestação, devido à ausência do conhecimento sobre potenciais efeitos nocivos, a prática da utilização de plantas com finalidade medicinal é considerado uma questão de saúde pública (RODRIGUES *et al.*, 2011).

Na gestação alguns AG, como o ômega-3, são transportados da mãe ao feto através da placenta, órgão este que supre a demanda nutricional do conceito, uma vez que o feto não sintetiza tais moléculas (DA COSTA MARQUES; LEÃO; DA SILVA JÚNIOR, 2018). De Azevedo Oliveira (2019) demonstrou que o óleo de pequi provocou efeito ansiolítico na prole de ratas *Wistar*, tratadas durante a gestação e a lactação. A autora sugeriu que isto poderia está associado com o teor de AG poli-insaturados presentes no óleo.

A lactação refere-se a um fisiológico que ocorre em mamíferos, sendo considerado fundamental para a sobrevivência dos indivíduos nos primórdios da fase extrauterina da vida (DE AZEVEDO OLIVEIRA, 2019), uma vez que a produção de leite materno nas glândulas mamárias da progenitora possui o intuito de fornecer à prole uma alimentação nutritiva fundamental para o seu desenvolvimento. Contudo, é importante ressaltar que a partir da lactação algumas substâncias com potencial de provocar alterações na prole podem ser secretadas no leite materno (BORSON *et al.*, 2019).



## 2.7 IMPORTÂNCIA DA TOXICOLOGIA DE PLANTAS

A toxicologia é refere-se à área científica destinada a estudar as ações nocivas que os compostos podem provocar no organismo. Tais ações nocivas incluem desde irritações nos olhos (casos leves) até lesões hepáticas e renais (casos graves). A toxicologia é considerada como uma das ciências práticas mais antigas, uma vez que desde os primórdios da humanidade, os seres humanos conhecem efeitos e aplicações de venenos de origem animal e de várias plantas tóxicas (OGA; DE SIQUEIRA, 2008).

Referente ao uso de plantas medicinais no contexto do Brasil sabe-se que estes vegetais são amplamente utilizados. Embora sejam produtos naturais, isto não elimina a possibilidade de possíveis efeitos tóxicos, uma vez que todas as plantas possuem toxicidade em determinadas concentrações (DA COSTA MENDIETA *et al.*, 2014). Sendo assim, é recomendado apenas o uso de plantas medicinais ou a ingestão destas na alimentação apenas quando o vegetal é conhecido e corretamente identificado (CAMPOS *et al.*, 2016).

Segundo Vieira (2003, p. 260), “os alimentos funcionais compreendem os alimentos que possuem compostos bioativos em sua composição química que promovem benefícios à saúde, além do que é obtido pela dieta básica”. No atual cenário mundial, os alimentos funcionais que contém AG monossaturados (MUFA), PUFA, compostos fenólicos e minerais, se destacam na profilaxia de patologias, incluindo as doenças cardiovasculares. Referente à castanha-do-Pará, este produto apresenta elevado teor de AG monoinsaturados e de ácidos graxos poli-insaturados, moléculas estas que desempenham papel anti-inflamatório e antioxidante, além de compostos fenólicos e selênio (FIGUEIREDO, 2019).

A partir dos registros na literatura, é evidente que as castanhas-do-Pará são fontes de várias substâncias que promovem benefício ao organismo dos animais, sobretudo nos humanos. Dentre os benefícios identificados na literatura, estava a prevenção de várias doenças e de outros distúrbios fisiológicos. Todos os relatos encontrados contribuem significativamente para enaltecer a importância do consumo das castanhas. Contudo, atualmente não existem relatos relacionados a possíveis potenciais toxicológicos novos à saúde e fisiologia de animais, evidenciando a existência de uma lacuna sobre tais parâmetros na literatura. Neste contexto, julga-se a necessidade de estudos com propósito de elucidar possíveis ações nocivas à saúde, principalmente de um produto amplamente consumido em cenário nacional e internacional.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL**

Analisar o potencial toxicológico em diferentes órgãos de ratas prenhas e sua prole expostas ao óleo de castanha-do-Pará bruto e refinado, durante a gestação e lactação.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

- Avaliar as alterações microscópicas no cérebro de ratas prenhas e sua prole, expostos ao óleo de castanha-do-Pará bruto e refinado, durante a gestação e lactação;
- Avaliar as alterações microscópicas no fígado de ratas prenhas e sua prole, expostos ao óleo de castanha-do-Pará bruto e refinado, durante a gestação e lactação;
- Avaliar as alterações microscópicas no intestino de ratas prenhas e sua prole, expostos ao óleo de castanha-do-Pará bruto e refinado, durante a gestação e lactação;
- Analisar morfometricamente o epitélio do intestino de ratas prenhas e sua prole, expostos ao óleo de castanha-do-Pará bruto e refinado, durante a gestação e lactação.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E LOCAL DE REALIZAÇÃO**

Esta pesquisa possui caráter quantiquantitativo, sendo realizada utilizando murinos experimentais. Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais Experimentais do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, sob o seguinte código: 09/2020 (**APÊNDICE A**).

As etapas experimentais foram realizadas no Laboratório de Ensaio Toxicológicos e Genética do Câncer (TOXGEN), utilizando o espaço físico do Laboratório de Biologia de Anuros (LABAN), do Centro de Educação e Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité.

### **4.2 ÓLEO DE CASTANHA-DO-PARÁ**

O óleo bruto e refinado de castanhas-do-Pará foi cedido gentilmente pelo Laboratório de Nutrição Experimental da UFCG/CES. Os pesquisadores deste departamento obtiveram o óleo bruto a partir do método de prensagem a frio de castanhas adquiridas comercialmente. Para tal, foi utilizada uma prensa hidráulica da marca SOLAB e modelo SL 10. Posteriormente, uma parte do óleo bruto foi refinada. Abaixo estão as informações cedidas pelo LANEX referentes sobre a composição de ácidos graxos contidos nos óleos (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Ácidos graxos presentes nos óleos de CP.

|                         |               | Óleo bruto | Óleo refinado |
|-------------------------|---------------|------------|---------------|
| <b>Ácidos Graxos</b>    |               |            |               |
| <b>SATURADOS</b>        |               |            |               |
| Ácido láurico           | C12:0         |            | 0.01          |
| Ácido palmítico         | C16:0         | 2.61       | 10.03         |
| Ácido esteárico         | C18:0         | 3.50       | 8.21          |
| Ácido araquídico        | C20:0         | 5.21       |               |
|                         | $\Sigma$ SFA  | 11.32      | 18.25         |
| <b>MONOSATURADOS</b>    |               |            |               |
| Ácido oleico            | C18:1         | 53.93      | 34.87         |
|                         | $\Sigma$ MUFA | 53.93      | 34.87         |
| <b>POLI-INSATURADOS</b> |               |            |               |
| Ácido linoleico         | C18:2         | 33.41      | 43.28         |
|                         | $\Sigma$ PUFA | 33.41      | 43.28         |

Fonte: Dados fornecidos pelo LANEX, 2021.

### 4.3 ENSAIO BIOLÓGICO

Fêmeas primíparas, da linhagem *Wistar (Rattus norvegicus)*, provenientes do Biotério de criação da UFCG, campus Cuité, com idade entre 120 e 150 dias e peso de  $250 \pm 50$  gramas foram utilizadas para obtenção dos ratos lactentes. Durante o acasalamento foram mantidas três fêmeas para cada macho. Os animais foram mantidos no laboratório de Nutrição Experimental do CES/UFCG, campus Cuité, até confirmação da prenhez através do esfregaço vaginal.

Posteriormente, as ratas prenhas foram alojadas em gaiolas-maternidade individuais de polipropileno, em condições-padrão: temperatura de  $22 \pm 1^\circ$  C, com ciclo claro-escuro (12 h; início da fase clara às 6:00 h), umidade de 65%. Além disso, estes animais receberam ração e água *ad libitum*, desde o primeiro dia de gestação até o final da lactação, totalizando 42 dias de exposição ao óleo. Após o nascimento, as ninhadas foram padronizadas em 08 filhotes (4 machos e 4 fêmeas). O protocolo experimental segue as recomendações éticas do *National Institute of Health* (Bethesda, USA), com relação aos cuidados com os animais.

As ratas progenitoras receberam 3 ml/kg de água destilada no grupo controle (CT), óleo bruto de CP ou óleo refinado de CP, durante 42 dias de tratamento, correspondendo 21 dias do período de gestação e 21 dias do período de lactação. Os compostos foram administrados nas ratas progenitoras por gavagem. Posteriormente, com base no tipo de substância que as ratas progenitoras receberam durante o período de tratamento, os filhotes machos e fêmeas foram agrupados em grupo controle, óleo bruto e óleo refinado, onde os grupos dos filhotes também foram agrupados por sexo. No total, foram utilizados 27 animais, distribuídos em 09 grupos (03 animais por grupo), sendo 03 das ratas progenitoras (CT; OB; OR), 03 dos filhotes machos (CT; OB; OR) e 03 dos filhotes fêmeas (CT; OB; OR). As doses dos óleos de castanhas administrado nos animais (3 ml/kg) foram baseadas em um estudo anterior que utilizou o óleo de pequi (TORRES *et al.*, 2016).

#### **4.4 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS**

Após o período de tratamento os animais foram eutanasiados utilizando o Cloridrato de Ketamina (90 mg/kg) + Cloridrato de Xilasina (10 mg/kg) (Torres *et al.*, 2016). Com isto, os animais foram eutanasiados por punção cardíaca. Posteriormente, foram isolados e retirados os órgãos das ratas progenitoras e sua prole para posteriores análises. Os órgãos extraídos foram: fígado, intestino e cérebro. Os órgãos extraídos foram lavados em solução salina (0,9%) e em seguida fixados em solução de formalina tamponada por um período de 24-48 h.

#### **4.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA HISTOLOGIA**

Os órgãos coletados e fixados foram levados imediatamente ao LABAN, onde procedeu-se todas as etapas do processamento para o preparo de lâminas: desidratação, diafanização, inclusão em parafina, microtomia e coloração. Estas etapas foram realizadas mediante adaptação de um protocolo disponível na literatura científica (DE SOUZA NUNES; CINSA 2016).

Para o preparo das lâminas histológicas dos cérebros das ratas progenitoras, bem como de sua prole, foi realizado um corte sagital neste órgão, separando-o em dois hemisférios cerebrais: o esquerdo e o direito, sendo que este último foi utilizado para o processamento a histologia. No fígado, utilizou-se de uma parte do lobo direito. No intestino, utilizou-se apenas a região duodenal para o preparo de lâminas.

Após o período de fixação em solução de formalina tamponada, as amostras foram desidratadas, removendo a solução fixadora, lavando as amostras em água e em seguida adicionando as amostras a soluções crescentes de etanol em diferentes concentrações (70%, 80%, 90%, 95% e absoluto, sendo que este último foi utilizado três vezes) por 1 h cada.

Ao finalizar a desidratação as amostras foram imediatamente expostas em solução de etanol e xilol (1:1), durante 40 minutos. Posteriormente, as amostras foram expostas a três banhos de xilol puro, durante 30 minutos cada.

As amostras foram expostas a xilol + parafina por 2 h, para completa retirada do álcool e permitir a entrada da parafina nos tecidos. Após isto, as amostras foram embebidas em parafina pura filtrada, aquecida a 60°C por 18 h. As amostras foram colocadas em blocos de papel e cobertas com parafina filtrada líquida (aquecida). As amostras ficaram por 24 h à temperatura ambiente para emblocar. Posteriormente, foi realizada a microtomia das amostras em espessura de 05 µm em micrótomo manual, modelo YD-315 (J.Y.M. Co Ltd, China). Após realização dos cortes no micrótomo, as amostras foram colocadas delicadamente em banho-maria, a 45°C para distensão dos cortes histológicos. Os cortes foram coletados do banho com auxílio de lâminas limpas e impregnadas com albumina.

Antes da coloração as lâminas, as amostras passaram pelo processo de reidratação para remover a parafina incluída no tecido. As lâminas foram imersas em xilol por 6 min e em seguida numa série de banhos de álcool etílico (absoluto, 90% e 70%) durante um minuto cada banho. Na coloração propriamente dita, foram utilizados dois corantes: a hematoxilina e a eosina (HE). A hematoxilina é um corante básico responsável pela coloração azul-arroxeadado dos ácidos nucléico presentes no núcleo. A eosina, por sua vez, é um corante ácido atraída pelos elementos básicos das proteínas do citoplasma da célula, corando-os de rosa a vermelho (DE SOUZA NUNES; CINZA, 2016).

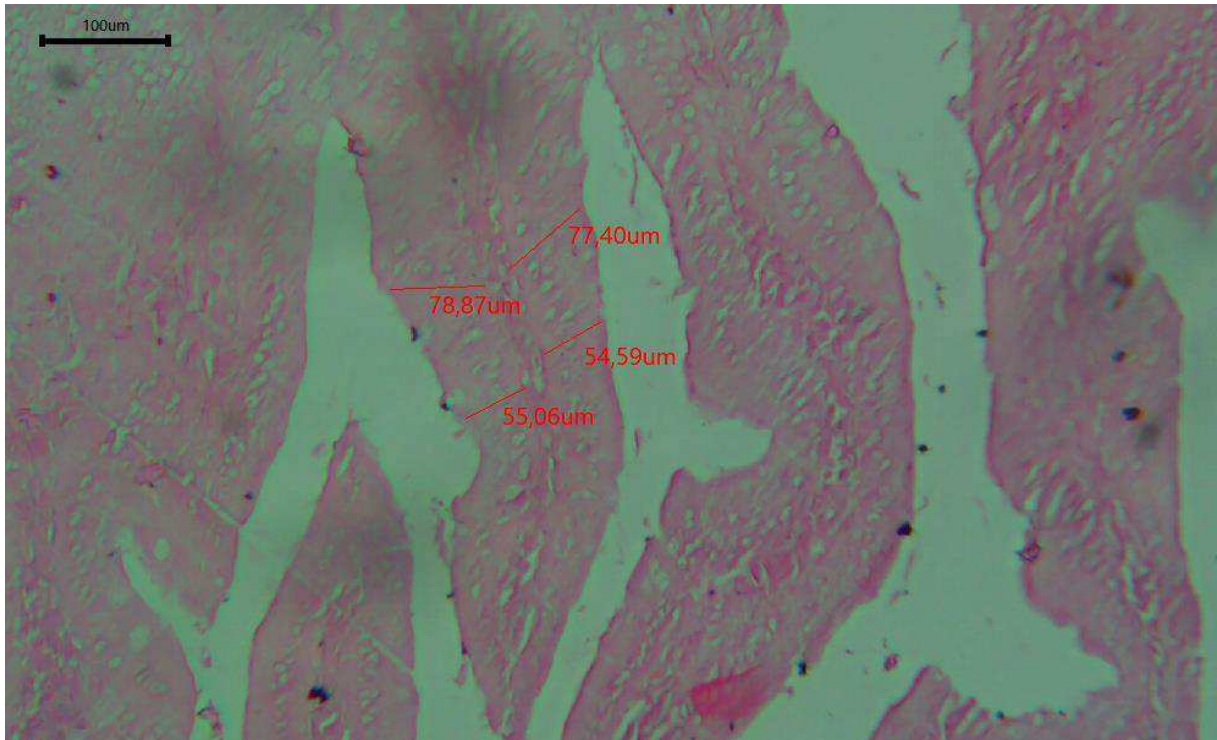
Posteriormente, as lâminas foram imersas em banhos de etanol (70%, 90% e 100%) por 1 min cada, seguido de banho de xilol por 6 min. Em seguida, foi adicionada uma gota de bálsamo do Canadá na amostra, cobriu-se com a lamínula, para tornar a lâmina permanente.

#### **4.6 ANÁLISES DAS LÂMINAS**

As lâminas montadas a partir das amostras obtidas de cérebro, fígado e intestino, dos animais foram analisadas em um microscópio óptico invertido, modelo IMX500 (Leipzig, Alemanha), acoplado com câmera digital UltraCam Xi HD 16M. As amostras foram avaliadas histologicamente usando objetivas de 4x, 10x e 40x. Em relação às análises morfométricas do

intestino e a captura das imagens das lâminas, estas foram realizadas utilizando o software *ImageView*, versão 3.7.10121, para Windows 10. Utilizou-se a ferramenta de mensuração do comprimento para estimar a altura das células epiteliais que compõem as vilosidades intestinais, estendendo-se da base a superfície apical do epitélio (**Figura 3**).

**Figura 3.** Estimativa da altura do epitélio intestinal.



Legenda: Fotomicrografia de lâmina de intestino delgado de rato, coradas com H&E, em um aumento final de: 200x. Escala de 100  $\mu$ m. **Fonte:** autor, 2021.

Para as análises histológicas e morfometria foram considerados 05 campos da lâmina por animal. Em específico à morfometria, foram utilizadas 03 lâminas por grupo de tratamento.

#### 4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *GraphPad Prism 8.0*. Foi aplicado o teste estatístico ANOVA de via única para comparação dos valores entre si, seguido do pós-teste de Tukey, para o grupo controle, óleo bruto e óleo refinado, sendo considerado significativo quando  $p < 0,05$ . No ANOVA de via única os valores foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média ( $\pm$  EPM).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ANÁLISES HISTOLÓGICAS

#### 5.1.1 CÉREBRO

As análises histológicas do cérebro dos animais (**Tabela 2**) identificaram alterações cerebrais nos filhotes machos do grupo OB, como congestão vascular e hemorragia (**Figura 4B**), bem como necrose (**Figura 4C**). O óleo refinado esteve associado com alteração no cérebro dos filhotes fêmeas como edema (**Figura 4D**). Nos demais grupos, não foram identificadas alterações (**Figura 4A**).

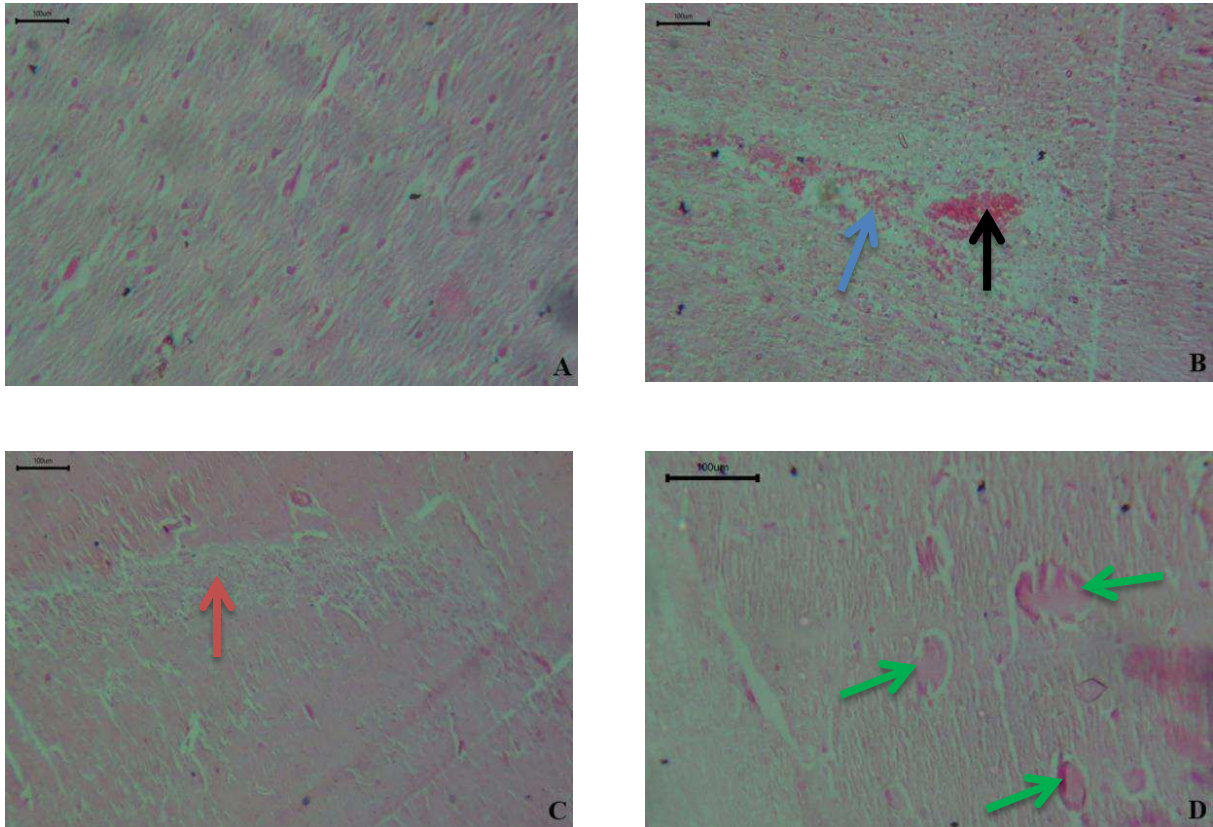
**Tabela 2.** Avaliação histológica das lâminas de cérebro de ratas fêmeas e sua prole após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação.

| <b>Animais</b>     | <b>Grupo de tratamento</b> | <b>Alterações observadas</b>             |
|--------------------|----------------------------|--|
| Ratas progenitoras | Controle                   | Nenhuma                                  |
|                    | Óleo bruto                 | Nenhuma                                  |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                                  |
| Filhotes machos    | Controle                   | Nenhuma                                  |
|                    | Óleo bruto                 | Congestão vascular, hemorragia e necrose |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                                  |
| Filhotes fêmeas    | Controle                   | Nenhuma                                  |
|                    | Óleo bruto                 | Nenhuma                                  |
|                    | Óleo refinado              | Edema cerebral                           |

**Fonte:** autor, 2021.



**Figura 4.** Fotomicrografias das alterações identificadas nas análises histológicas do cérebro de ratas fêmeas e sua prole após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação.



Legenda: Fotomicrografia de lâminas de cérebro de ratos *Wistar* em microscopia óptica comum, coradas com H&E, em um aumento final de: 200x. Escala da barra: 100 µm para todas as imagens. A- cérebro de ratas progenitoras (controle). B e C- Cérebro de filhote macho após tratamento com óleo bruto de castanha-do-Pará; D- Cérebro de filhote fêmea após tratamento com óleo refinado de castanha-do-Pará. Cabeça de seta preta – congestão vascular (grande volume de hemácias no interior do vaso sanguíneo). Cabeça de seta verde – edema. Cabeça de seta azul - hemorragia. Cabeça de seta vermelha – necrose. **Fonte:** autor, 2021.

### 5.1.2 FÍGADO

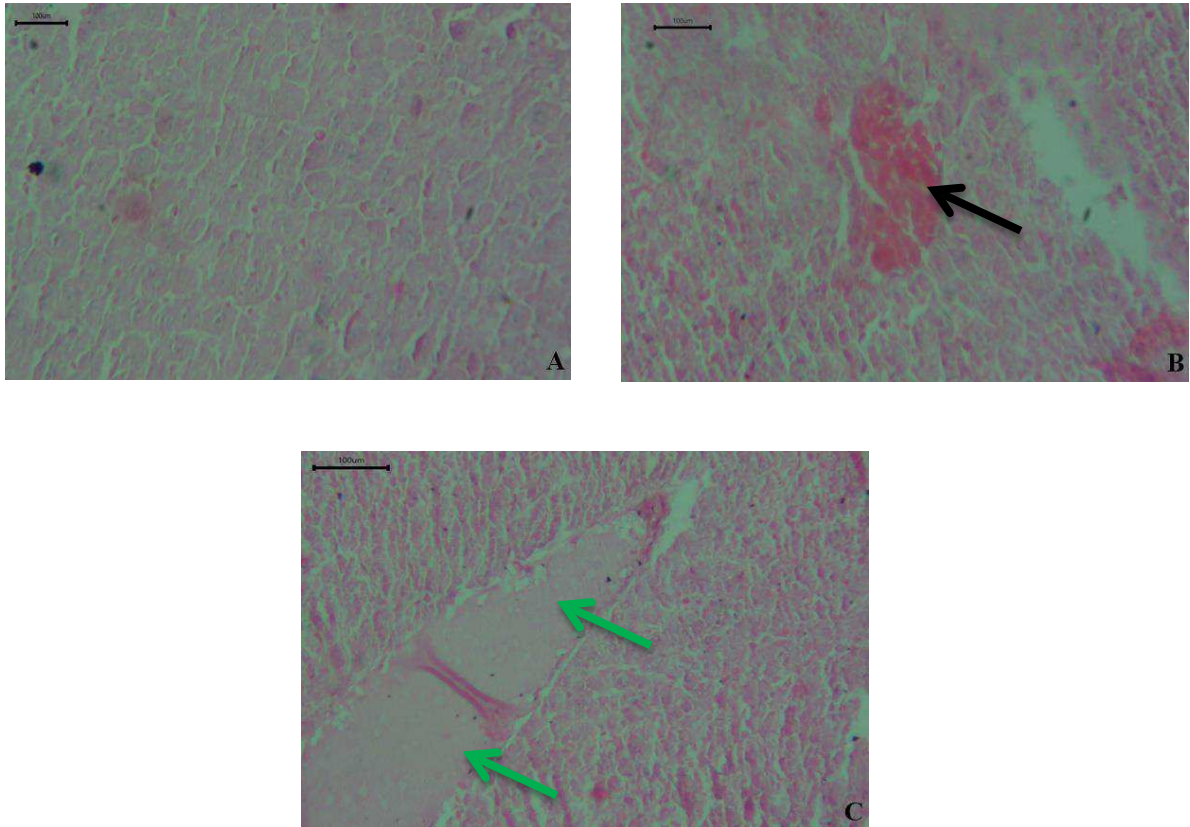
As análises histológicas do fígado dos animais (**Tabela 3**) identificaram a presença de edema hepático (**Figura 5C**) e congestão vascular (**Figura 5B**) nas ratas progenitoras e nos filhotes machos, enquanto que nos filhotes fêmeas foi identificada apenas congestão vascular, no grupo do óleo bruto, Não foram identificadas alterações nos animais no grupo do óleo refinado (**Figura 5A**).

**Tabela 3.** Avaliação histológica das lâminas de fígado de ratas fêmeas e sua prole, após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação.

| <b>Animais</b>     | <b>Grupo de tratamento</b> | <b>Alterações observadas</b>        |
|--------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| Ratas progenitoras | Controle                   | Nenhuma                             |
|                    | Óleo bruto                 | Edema hepático e congestão vascular |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                             |
| Filhotes machos    | Controle                   | Nenhuma                             |
|                    | Óleo bruto                 | Edema hepático e congestão vascular |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                             |
| Filhotes fêmeas    | Controle                   | Nenhuma                             |
|                    | Óleo bruto                 | Congestão vascular                  |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                             |

**Fonte:** autor, 2021.

**Figura 5.** Fotomicrografias das alterações identificadas nas análises histológicas do fígado de ratas fêmeas e sua prole após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação.



Legenda: Fotomicrografia de lâminas de fígado de ratos *Wistar* em microscopia óptica comum, coradas com H&E, em um aumento final de: 400x. Escala da barra: 100 µm para todas as imagens. A- Fígado de ratas progenitoras do grupo controle; B e C- Fígado de filhote macho tratados com óleo bruto de castanha-do-Pará; Cabeça de seta preta – congestão vascular (grande volume de hemácias no interior do vaso sanguíneo). Cabeça de seta verde – edema. **Fonte:** autor, 2021.

### 5.1.3 INTESTINO

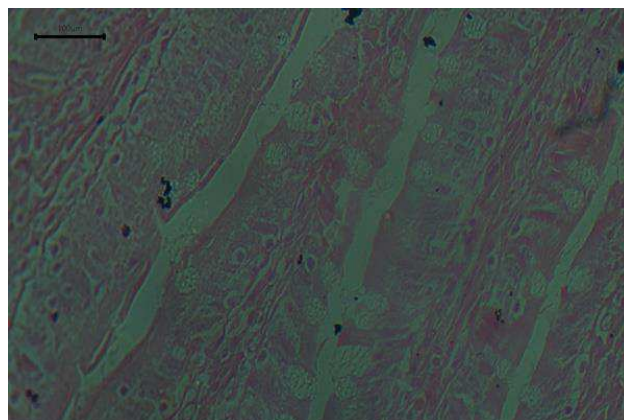
As análises histológicas do intestino dos animais (**Tabela 4**) não indicaram nenhuma alteração nos grupos tratados com o óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará (**Figura 6**).

**Tabela 4.** Avaliação histológica das lâminas do intestino de ratas fêmeas e sua prole, após ingestão de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará, durante a gestação e lactação.

| <b>Animais</b>     | <b>Grupo de tratamento</b> | <b>Alterações observadas</b> |
|--------------------|----------------------------|------------------------------|
| Ratas progenitoras | Controle                   | Nenhuma                      |
|                    | Óleo bruto                 | Nenhuma                      |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                      |
| Filhotes machos    | Controle                   | Nenhuma                      |
|                    | Óleo bruto                 | Nenhuma                      |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                      |
| Filhotes fêmeas    | Controle                   | Nenhuma                      |
|                    | Óleo bruto                 | Nenhuma                      |
|                    | Óleo refinado              | Nenhuma                      |

**Fonte:** autor, 2021.

**Figura 6.** Fotomicrografia representativa do intestino de animais com ausência de alterações histológicas.



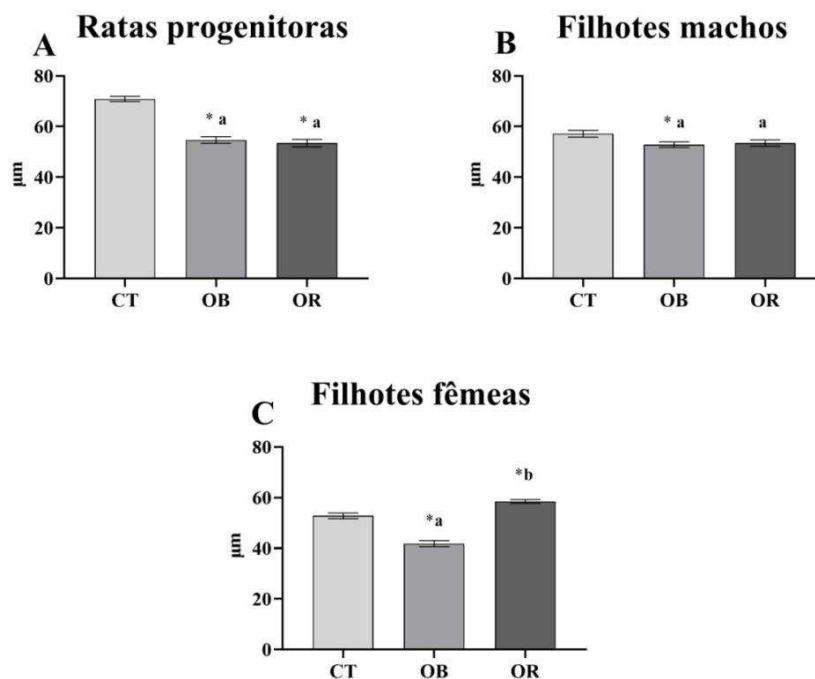
Legenda: Fotomicrografia de lâminas de intestino de ratas *Wistar* progenitoras do grupo controle, em microscopia óptica comum, coradas com H&E, em um aumento final de: 400x. Escala da barra: 100 µm. Lâmina com ausência de alterações histológicas. **Fonte:** autor, 2021.

## 5.2 MORFOMETRIA DO EPITÉLIO INTESTINAL

As análises morfométricas do epitélio que reveste as vilosidades intestinais dos animais indicaram uma redução do comprimento da altura do epitélio nos grupos OB e OR em comparação ao grupo CT nas ratas progenitoras ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa entre OB e OR.

Nos filhotes machos notou-se atrofia do epitélio no grupo OB em relação ao CT ( $p < 0,05$ ). Nos filhotes fêmeas foram identificadas atrofia epitelial no grupo OB e hipertrofia da mucosa intestinal no grupo OR referentes a altura dos enterócitos do epitélio intestinal em comparação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Além disso, a diferença entre o grupo OB e OR foi considerada estatisticamente significativa.

**Figura 7.** Avaliação da morfometria da altura dos enterócitos de ratas prenhas e sua prole tratadas com óleo de castanha-do-Pará durante a gestação e lactação.



Legenda: Medida da altura dos enterócitos em  $\mu\text{m}$ , obtidas a partir do epitélio das criptas do intestino delgado. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM e foram analisados pelo teste ANOVA de via única, e pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$  – comparado ao grupo controle. b- indicam diferença significativa entre o grupo OB e OR ( $p < 0,05$ ). OB – óleo bruto. OR – óleo refinado. **Fonte:** autor, 2021.

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou o impacto do consumo de óleo bruto e refinado de castanha-do-Pará em ratas prenhas e sua prole, que estava em estágio inicial de vida. O processo de refinamento dos óleos tem o propósito de remover alguns compostos e impurezas que podem provocar alterações fisiológicas no organismo, bem como muda o perfil dos AG presente nos óleos, moléculas estas que são transferidas para o feto através da placenta e no neonato isto ocorre por meio da amamentação (MEDEIROS *et al.*, 2015). Nesta perspectiva, em específico ao óleo de CP percebeu-se alteração nas concentrações de AG que compõe o óleo. O óleo refinado apresentou maior concentração de ácidos graxos saturados (SFA) e menores concentração de ácidos graxos monossaturados e poli-insaturados em comparação ao óleo bruto.

O tratamento das ratas pela ingestão diária de 3ml/kg de óleo bruto ou refinado durante 42 dias demonstrou que o óleo de castanha-do-Pará na forma bruta ou refinada não causou alterações no cérebro das ratas progenitoras. Isto pode ter ocorrido pela proteção da barreira hematoencefálica, uma vez que esta estrutura tem como finalidade de limitar e regular a troca de substâncias entre o sangue e o sistema nervoso central, conferindo a este último proteção contra algumas substâncias potencialmente neurotóxicas (ROJAS; RITTER; PIZZOL, 2011). Contudo, são necessárias outras investigações para melhor elucidar esta possível associação.

De acordo com a análise do perfil de AG do óleo bruto e do óleo refinado de CP, foi indicada a presença do ácido palmítico, que quando consumido em excesso pode provocar ação neurotóxica sobre as células neuronais, assim como demonstrado em uma co-cultura neuronal e microglial (BEAULIEU *et al.*, 2021). O ácido palmítico além de ser encontrado em alguns óleos vegetais, também está presente principalmente na composição do leite (LOFTEN *et al.*, 2014).

Em relação à prole, notou-se que, o óleo bruto nos filhotes machos esteve associado com alterações cerebrais como congestão vascular, hemorragia e necrose. O grupo dos filhotes fêmeo que recebeu o óleo refinado apresentou edemas cerebrais. As alterações encontradas na prole pode ser indicativo de um potencial efeito teratogênico do óleo bruto nos machos e do óleo refinado nos filhotes fêmeas, uma vez que define-se como teratógenos toda e qualquer substância, agente biológico, agente físico ou deficiência que sejam capazes de provocar alterações no conceito durante o período gestacional (DA SILVA *et al.*, 2021).

Contudo, neste estudo não é possível afirmar que este efeito teratogênico ocorreu devido a uma possível exposição dos filhotes ao óleo de CP por via placentária ou pela amamentação, uma vez que as ratas progenitoras receberam o óleo tanto na gestação quanto na lactação.

Medeiros e colaboradores (2015) em seu estudo testaram o efeito do óleo de buriti na forma bruta e refinada em ratos *Wistar* na gestação e lactação. Com isto, os autores identificaram que os grupos que receberam tais substâncias apresentaram retardo na maturação reflexa e somática, indicando que o refinamento do óleo não foi capaz de restringir efeitos nocivos sobre parâmetros neuronal dos animais. Com isto, julga-se que, em alguns óleos vegetais, o processo de refinamento não consegue eliminar completamente substâncias do óleo capazes de provocar neurotoxicidade. Nesta perspectiva, referente ao óleo de CP, evidencia-se a necessidade de estudos futuros para determinar o limite a ser consumido.

Os resultados da histologia do fígado nas ratas progenitoras e filhotes machos indicaram a presença de edema e congestão vascular nos animais que receberam o óleo bruto, enquanto que nos filhotes fêmeas foi identificada apenas congestão vascular. No grupo OR, não foram identificados alterações histológicas em nenhum animal. Neste estudo, o processo de refinamento promoveu aumento dos teores de PUFA e SFA. Contudo, é notável que o óleo bruto também possui elevado teor de PUFA. Devido o fígado ser o órgão responsável pelo metabolismo dos PUFA, o elevado teor destas moléculas podem gerar hepatotoxicidade (DAVIM *et al.*, 2020), especialmente devido o aumento da proporção entre ômega-6 e ômega-3, presente e ausente nos óleos, respectivamente, que podem está associados com o desenvolvimento de alterações no fígado como a doença hepática gordurosa não alcoólica (PATTERSON *et al.*, 2012). Além disso, é importante destacar que o ácido araquídico, pertencente ao grupo dos SFA, neste estudo presente apenas no óleo bruto, pode provocar injúrias hepáticas (LAPARRA *et al.*, 2015).

Referente ao teor de selênio sabe que seu conteúdo pode variar nas castanhas-do-Pará, de acordo com aspectos fisiológicos e ambientais em que a castanheira está inserida. Deste modo é fundamental o monitoramento dos níveis de selênio nas sementes e em seus produtos derivados (DA SILVA JÚNIOR, 2016), pois quando esta substância encontra-se em excesso no organismo, podem causar uma condição conhecida por selenose. Intoxicações por selênio podem afetar o fígado (NÓBREGA, 2015). Contudo, não foi possível quantificar os níveis de selênio contidos no óleo bruto e no óleo refinado, utilizados neste estudo.

A análise histológica dos intestinos dos animais identificou ausência de alterações deste órgão em todos os animais. Curiosamente, o estudo realizado por Mori (2018) identificou a presença de edema no intestino de ratos adultos, embora tenha utilizado ratos

machos com inflamação no intestino como modelos murinos experimentais e administrado no tratamento o óleo refinado de castanhas-do-Pará, nas dosagens de 75, 150 e 300 mg/kg. A dosagem máxima utilizada pela autora possui proporção de 10x menor que a utilizada nesta pesquisa, podendo indicar que fatores como sexo, o estágio de vida do animal, bem como a condição fisiológica destes, possam influenciar na toxicidade do óleo de CP.

As análises morfométricas realizadas nos grupos tratados com o óleo bruto das ratas progenitoras e na prole indicaram redução do comprimento do epitélio intestinal, referente à altura dos enterócitos, contudo o óleo refinado esteve associado com redução do comprimento epitelial nas ratas progenitoras e aumento nos filhotes fêmeas. A atrofia do epitélio das vilosidades intestinais pode provocar um quadro clínico de má absorção de nutrientes (LIU *et al.*, 2014).

O estudo conduzido por Rosa e colaboradores (2010) identificou que o óleo de oliva, peixe e linhaça são substâncias que preservam as vilosidades intestinais, dados estes obtidos por morfometria. Nesta perspectiva, julga-se que por meio da morfometria podem ser identificadas alterações que prejudicam as vilosidades intestinais, como foi observado neste estudo, onde o óleo de CP em alguns grupos esteve associado com alterações no epitélio intestinal. Na análise morfométricas da vilosidade duodenal realizada por Lucena (2016) não foram identificadas alterações do intestino dos ratos machos púberes que receberam o tratamento com 0,05 mg/kg de Sulfato de Vincristina aos quinze dias de vida em comparação ao grupo controle, onde possivelmente administração ocorreu dentro do período de lactação. Nesta perspectiva, as alterações presentes em alguns grupos dos filhotes pode ser um indicativo de efeito teratogênico do óleo de castanha-do-Pará, embora não tenha havido alterações histológicas no intestino dos filhotes.

Com base nos achados desta pesquisa, tornou-se evidente que o óleo de castanhas-do-Pará na dose de 3ml/Kg durante a gestação e lactação, seja na forma bruta ou refinada, esteve associado com alterações histológicas e morfométricas em alguns grupos de animais. Sendo assim, é necessário precaução com o consumo do óleo de castanhas-do-Pará, principalmente no período gestacional e de lactação na dosagem supracitada. Contudo, investigações futuras são essenciais esclarecer os parâmetros ligados ao consumo do óleo em seres humanos, a fim de identificar os possíveis riscos.

Embora esta pesquisa apresente limitações como a ausência na dosagem dos níveis de selênio no óleo, testes para determinar alguns parâmetros bioquímicos dos animais, bem como investigação sobre a dosagem utilizada (3ml/kg) do óleo pode ser considerada superdosagem, julga-se que este estudo pode contribuir para a resolução parcial da lacuna existente na



literatura referente às possíveis ações toxicológicas do óleo de castanha-do-Pará. Além disso, este estudo serve como base para a realização de futuros estudos sobre a temática em questão.

## 7 CONCLUSÕES

A administração do óleo bruto afetou histologicamente o cérebro dos filhotes machos, o fígado das ratas progenitoras e da prole. Além disso, o óleo bruto afetou morfometricamente a altura dos enterócitos das ratas progenitoras e da prole. Por sua vez, a administração do óleo refinado afetou histologicamente o cérebro dos filhotes fêmeas, bem como provocou alterações morfométricas no intestino das ratas progenitoras e dos filhotes fêmeas. Tais alterações evidenciam o efeito tóxico do óleo de CP, sendo mais presente no óleo bruto em alguns grupos de animais, evidenciando a necessidade de futuros estudos para esclarecer melhor estes parâmetros, sobretudo referente à toxicidade em humanos.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. J. **Do extrativismo à domesticação: As possibilidades da Castanha-do-Pará**. 2015. Tese (Doutorado em História Econômica), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

AUED-PIMENTEL, S. *et al.* Ácidos graxos trans em óleos vegetais refinados poli-insaturados comercializados no estado de São Paulo, Brasil. **Food Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 646-651, 2009. DOI <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000300030>.

BALBI, M. E. *et al.* Castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa* BONPL.): composição química e sua importância para saúde. **Visão Acadêmica**, v. 15, n. 2, p. 51-63, 2014.

BATISTA, A. M. *et al.* Consumo alimentar de magnésio, potássio e fósforo por adolescentes de uma escola pública. **Saúde e Pesquisa**, v. 9, n. 1, p. 73-82, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.177651/1983-1870.2016v9n1p73-82>.

BEAULIEU, J. *et al.* The Neuroinflammatory and Neurotoxic Potential of Palmitic Acid Is Mitigated by Oleic Acid in Microglial Cells and Microglial-Neuronal Co-cultures. **Molecular Neurobiology**, v. 58, n. 6, p. 3000-3014, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02328-7>.

BORSON, L. A. M. G. *et al.* A exposição de substâncias na gestação e lactação. **Revista Saúde em Foco**, n. 11, p. 609-620, 2019. Disponível em: [https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/06/055\\_A-exposi%C3%A7%C3%A3o-de-subst%C3%A2ncias-na-gesta%C3%A7%C3%A3o-e-lacta%C3%A7%C3%A3o-609\\_a\\_620.pdf](https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/06/055_A-exposi%C3%A7%C3%A3o-de-subst%C3%A2ncias-na-gesta%C3%A7%C3%A3o-e-lacta%C3%A7%C3%A3o-609_a_620.pdf). Acesso em: 20 ago. 2021.

BROLIO, M. P. *et al.* A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 4, p. 222-232, 2010. Disponível em: <https://cbra.websiteseuro.com/pages/publicacoes/rbra/v34n4/p222-232.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2021.

CALDER, P. C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. **Nutrients**, v. 2, n. 3, p. 355-374, 2010. DOI: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fnu2030355>.

CAMPOS, S. C. *et al.* Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n.1, p. 373-382, 2016. DOI: [http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15\\_057](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15_057).

CHUNHIENG, T. *et al.* Detailed study of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) oil micro-compounds: phospholipids, tocopherols and sterols. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1374-1380, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000700021>.

COELHO, L. M. *et al.* Genetic diversity in populations of Brazil nut. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, p. 382-389, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332017v17n4a57>.

CONTE, C. F. **Estabilidade oxidativa de granulado de castanha-do-para**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

COSTA E SILVA, L. M. *et al.* Comparison of the effects of Brazil nut oil and soybean oil on the cardiometabolic parameters of patients with metabolic syndrome: a randomized trial. **Nutrients**, v. 12, n. 1, p. 46, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12010046>.

COSTA, J. R. *et al.* Aspectos silviculturais da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) em sistemas agroflorestais na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 843-850, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672009000400013>.

COSTA, M. G.; TONINI, H.; MENDES FILHO, P. Atributos do solo relacionados com a produção da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*). **Floresta e ambiente**, v. 24, p. e20150042, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.004215>.

CRUZ, L. L. *et al.* Distribuição diamétrica de três espécies de Lecythidaceae após exploração de impacto reduzido na Amazônia Oriental. **Ciência Florestal**, v. 31, n.1, p. 171-190, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509836011>.

DA COSTA MARQUES, M. B.; LEÃO, P. R. D.; DA SILVA JÚNIOR, O. M. Ômega 3 na gestação e seus benefícios. **Femina**, v. 46, n. 1, p. 54-58, 2018. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/02/1050103/femina-2018-461-54-58.pdf>. Acesso em: 20 set. 2021.

DA COSTA MENDIETA, M. *et al.* Plantas tóxicas: importância do conhecimento para realização da educação em saúde. **Revista de Enfermagem UFPE On line**, v. 8, n. 3, p. 680-686, 2014. DOI: 10.5205/reuol.5149-42141-1-SM.0803201424.

DA CRUZ PINHEIRO, R. **Avaliação do Potencial das Amêndoas de Frutos Amazônicos para Fins Alimentícios**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

DA CUNHA BRITO, R. **Produção de ésteres etílicos utilizando rejeito da neutralização do processo do refino dos óleos de buriti, maracujá e castanha-do-pará**. 2015. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

DA GLÓRIA, M. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Food Science and Technology**, v. 20, n.2, p. 240-245, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612000000200019>.

D'ARCE, M. A. B. R. **O processo industrial do óleo vegetal e do farelo**. Agronegócio, p. 140-141, 2006. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va05-agronegocio04.pdf>. Acesso em: 20 set. 2021.

DA SILVA, D. R. B.; MIRANDA JÚNIOR, P. F.; DE ABREU SOARES, E. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 7, n. 2, p. 123-133, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-38292007000200002>.

DA SILVA, M. E. *et al.* Agentes teratogênicos e desenvolvimento fetal: Uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e0210514555, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14555>.

DA SILVA, T. P.; PONTES, A. N.; ALBUQUERQUE, A. R. Cadeias de produção sustentáveis no extrativismo de castanha do Brasil na Amazônia brasileira. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 63460-63478, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n8-687.

DA SILVA JÚNIOR, E. C. **Selênio na castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) e em solos da região Amazônica Brasileira**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

DAVIM, A. L. S. *et al.* Eficácia do exercício físico na redução da hepatotoxicidade associada à dieta rica em ácidos graxos poli-insaturados. DOI: <https://dx.doi.org/10.37885/201102331>. In: DE MELO GRILO, R.; SWERTS, M. M. **Educação Física e Ciências do Esporte: Uma Abordagem Interdisciplinar**. 1 ed. vol. 2. Guarujá: Científica Digital, 2020.

DE AZEVEDO OLIVEIRA, M. L. **Avaliação dos parâmetros ansiolíticos em prole de ratas Wistar suplementadas com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense camb*) durante a gestação e lactação**. 2019. Monografia (Graduação em Nutrição), Universidade Federal de Campina Grande, Cuité. 2019.

DE FREITAS, C. E. P. *et al.* Estudos de estabilidade de biohidrogel de galactomanana aditivado com emulsão de óleo de castanha-do-Pará. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 52435-52447, 2021a. DOI: 10.34117/bjdv7n5-578.

DE FREITAS, C. E. P. *et al.* Extração do óleo de castanha-do-Pará via Soxhlet utilizando solvente alternativo. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 52474-52482, 2021b. DOI: 10.34117/bjdv7n5-582.

DE FREITAS, S. C. *et al.* Meta-análise do teor de selênio em castanha-do-brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 1, p. 54-62, 2008. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Metaanalise\\_000g4yb511y02wx5ok0dkla0s74fcmq.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Metaanalise_000g4yb511y02wx5ok0dkla0s74fcmq.pdf). Acesso em: 28 set. 2021.

DE LIMA PERINI, J. A. *et al.* Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 6, p. 1075-1086, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000600013>.

DE PAIVA SALOMÃO, R. A castanheira: história natural e importância socioeconômica. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, v. 9, n. 2, p. 259-266, 2014. Disponível em: <https://repositorio.museu-goeldi.br/bitstream/mgoeldi/874/1/Bol.%20M.%20Goeldi.%20Cie.%20Nat.%20v.9,%20n.%202,%202014,%20SALOM%C3%83O.pdf>. Acesso em: 06 ago. 2021.

DE SOUZA FERREIRA, E. *et al.* Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HBK). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. 2, p. 203-208, 2006. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/49599821\\_Caracterizacao\\_fisico-quimica\\_da\\_amendoa\\_torta\\_e\\_composicao\\_dos\\_acidos\\_graxos\\_majoritarios\\_do\\_oleo\\_bruto\\_da\\_castanha-do-brasil\\_bertholletia\\_excelsa\\_hbk](https://www.researchgate.net/publication/49599821_Caracterizacao_fisico-quimica_da_amendoa_torta_e_composicao_dos_acidos_graxos_majoritarios_do_oleo_bruto_da_castanha-do-brasil_bertholletia_excelsa_hbk). Acesso em: 05 ago. 2021.

DE SOUZA NUNES, C.; CINSA, L. A. Princípios do processamento histológico de rotina. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais – Animais e Humanos**, v. 8, n. 1, p. 31-40, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/riee/article/view/24028>. Acesso em: 10 ago. 2021.

DOS SANTOS, E. S. *et al.* Uso de ácidos graxos poli-insaturados durante a gestação: Um estudo bibliográfico. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 11, n. 1, p. e218, 2018. DOI: <https://doi.org/10.25248/reas.e218.2019>.

DOS SANTOS, J. U. M. *et al.* *Bertholletia excelsa* *Bertholletia excelsa* Humboldt & Humboldt & Bonpland (Lecythidaceae): aspectos morfológicos do fruto, da semente e da plântula1. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, v. 1, n. 2, p. 103-112, 2006. Disponível em: [http://editora.museu-goeldi.br/bn/artigos/cnv1n2\\_2006/bertholletia\(santos\).pdf](http://editora.museu-goeldi.br/bn/artigos/cnv1n2_2006/bertholletia(santos).pdf). Acesso em: 05 ago. 2021.

FIGUEIREDO, M. S. Consumption of Brazil Nuts Provides Cardiovascular Health Benefits. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 32, n. 3, p. 205-206, 2019. DOI: 10.5935/2359-4802.20190037.

HOMMA, A. K. O.; DE MENEZES, A. J. E. A. Avaliação de uma indústria beneficiadora de castanha-do-pará, na microrregião de Cametá, PA. **Embrapa Amazônia Oriental- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2008. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/388686/1/ComTec213.pdf>. Acesso em: 09 ago. 2021.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura**. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2019>. Acesso em: 19 ago. 2021.

INNES, J. K.; CALDER, P. C. Omega-6 fatty acids and inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 132, p. 41-48, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.03.004>.

INNIS, S. M. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n. 3, p. 734S-741S, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.072595>.

JORGE, M. S. P.; PERES, C. A. Population density and home range size of red-rumped Agoutis (*Dasyprocta leporina*) within and outside a natural Brazil nut stand in Southeastern Amazonia 1. **Biotropica: The Journal of Biology and Conservation**, v. 37, n. 2, p. 317-321, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2005.00041.x>.

KATO, C. G. *et al.* Caracterização físico-química da torta de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HBK) obtido pelo método de prensagem para o aproveitamento tecnológico. **REVISTA UNINGÁ REVIEW**, v. 25, n. 2, p. 07-11, 2016. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1770/1376>. Acesso em: 06 ago. 2021.

KERN, H. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Árvore do Conhecimento: Castanha do Brasil**. Brasil: Brasília, 2010. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/castanha-do-brasil/Abertura.html>. Acesso em: 19 ago. 2021.

LAPARRA, J. M. *et al.* Kojibiose ameliorates arachidic acid-induced metabolic alterations in hyperglycaemic rats. **British Journal of Nutrition**, v. 114, n. 9, p. 1395-1402, 2015. DOI: 10.1017/S0007114515003153.

LEANDRO, R. I. M. *et al.* Elementary, chemical and energy characteristics of Brazil nuts waste (*Bertholletia excelsa*) in the state of Para. **Floresta e Ambiente**, v. 26, p. e20180436, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.043618>.

LIU, S. M. *et al.* Doença celíaca. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 24, n. supl 2, p. S38-S45, 2014. DOI: 10.5935/2238-3182.20140037.

LOFTEN, J. R. *et al.* Invited review: Palmitic and stearic acid metabolism in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 8, p. 4661-4674, 2014. DOI: 10.3168/jds.2014-7919.

LUCENA, W. K. B. **EFEITO DO SULFATO DE VINCRISTINA SOBRE EPITÉLIO INTESTINAL E SEMINÍFERO DE RATOS**. 2016. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2010.

MARTIN, C. A. *et al.* Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n.6, p. 761-770, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>.

MEDEIROS, M. C. *et al.* Buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) negatively impacts somatic growth and reflex maturation and increases retinol deposition in young rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 46, p. 7-13, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2015.05.001>.

MENDES, D. B. *et al.* Teor de ácido oléico nos óleos de girassol, milho e soja. **Revista de Trabalhos Acadêmicos**, v. 3, n. 6, 19-25, 2012. Disponível em: [https://web.archive.org/web/20180512165522id\\_/http://www.revista.universo.edu.br/index.php?journal=1reta2&page=article&op=viewFile&path%5B%5D=746&path%5B%5D=567](https://web.archive.org/web/20180512165522id_/http://www.revista.universo.edu.br/index.php?journal=1reta2&page=article&op=viewFile&path%5B%5D=746&path%5B%5D=567). Acesso em: 15 ago. 2021.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. **Embriologia Clínica**. 10 ed. Amsterdã: Elsevier, 2016.

MORI, C. Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal do óleo de *Bertholletia excelsa* Bonpl. 2018. Dissertação (Mestrado em Farmacologia e Biotecnologia), Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu, 2018.

MÜLLER, C. H. *et al.* **Coleção Plantar**: castanha-do-brasil. Brasília: EMBRAPA, 1995. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/162019/1/A-cultura-da-castanha-do-Brasil.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2021.

NÓBREGA, P. T. **Selênio e a importância para o organismo humano** - benefícios e controvérsias. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

NOGUEIRA, A. K. M.; DE SANTANA, A. C. Influência das chuvas na oferta de castanha-do-brasil e o impacto no benefício socioeconômico e ambiental, no Oeste do estado do Pará. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 45, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/dma.v45i0.50562>.

OGA, S.; DE SIQUEIRA, M. E. P. B. BASES DA TOXICOLOGIA. *In*: OGA, S.; DE ALMEIDA CAMARGO, M. M.; DE OLIVEIRA BATISTUZZO, J. A. **Fundamentos de Toxicologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

PATTERSON, E. *et al.* Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2012, 2012. DOI: 10.1155/2012/539426.

PINHEIRO, B. S. *et al.* SELÊNIO-SUA IMPORTÂNCIA NO ORGANISMO HUMANO. **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAIT**, n. 1, 2019. Disponível em: [http://fait.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/GfnpAhZ0IZaTgNT\\_2020-12-2-19-45-54.pdf](http://fait.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/GfnpAhZ0IZaTgNT_2020-12-2-19-45-54.pdf). Acesso em: 15 ago. 2021.

PREMAOR, M. O.; BRONDANI, J. E. Nutrição e saúde óssea: a importância do cálcio, fósforo, magnésio e proteínas. **Revista da AMRIGS**, v. 60, n. 3, p. 253-263, 2016. Disponível em:

[https://web.archive.org/web/20180412032708id\\_/http://www.amrigs.com.br/revista/60-03/18\\_1536\\_Revista%20AMRIGS.PDF](https://web.archive.org/web/20180412032708id_/http://www.amrigs.com.br/revista/60-03/18_1536_Revista%20AMRIGS.PDF).

RAMALHO, A. B. *et al.* Diversidade genética entre genótipos de *Bertholletia excelsa* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Floresta**, v. 46, n. 2, p. 207-214, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/RF.V46I2.41970>.

RAMIREZ, A. V. G. A importância do magnésio na doença cardiovascular. **International Journal of Nutrology**, v. 9, n. 04, p. 242-253, 2016. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-0040-1705639.pdf>. Acesso em: 01 ago. 2021.

RANGEL, R. C. **EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO CONSUMO DE ÓLEO DE CÁRTAMO NA PROLE DE RATAS DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO**. 2014. Monografia (Bacharelado em Nutrição), Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2014.

RETT, B. S.; WHELAN, J. Increasing dietary linoleic acid does not increase tissue arachidonic acid content in adults consuming Western-type diets: a systematic review. **Nutrition & Metabolism**, v. 8, p. 1-15, 2011. DOI: 10.1186/1743-7075-8-36.

RODRIGUES, H. G. *et al.* Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 3, p. 359-366, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000300016>.

ROJAS, H.; RITTER, C.; PIZZOL, F. D. Mecanismos de disfunção da barreira hematoencefálica no paciente criticamente enfermo: ênfase no papel das metaloproteínas de matriz. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, n.2, p. 222-227, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbti/a/fvs8zJc64hvpYgn9BzHBqtP/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 25 ago. 2021.

ROSA, D. D. *et al.* Óleo de linhaça, oliva e peixe influenciam os lipídios plasmáticos, migração de linfócitos e morfometria intestinal de ratos Wistar. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 275-280, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-86502010000300010>.

RUBERT, A. *et al.* Vitaminas do complexo B: uma breve revisão. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 7, n. 1, p. 30-45, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.17058/rjp.v7i1.9332>.

RYAN, E. *et al.* 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. 3-4, p. 219-228, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1080/09637480600768077>.

SCOLES, R.; GRIBEL, R.; KLEIN, G. N. Crescimento e sobrevivência de castanheira (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) em diferentes condições ambientais na região do rio Trombetas, Oriximiná, Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais**, v. 6, n. 3, p. 273-293, 2011. Disponível em: [http://editora.museu-goeldi.br/bn/artigos/cnv6n3\\_2011/crescimento\(scoles\).pdf](http://editora.museu-goeldi.br/bn/artigos/cnv6n3_2011/crescimento(scoles).pdf). Acesso em: 04 ago. 2021.

SILVA, A. A. *et al.* Potencial do extrativismo da castanha-do-pará na geração de renda em comunidades da mesorregião baixo Amazonas, Pará. **Floresta e Ambiente**, v. 20, p. 500-509, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.4322/floram.2013.046>.

SILVA, M. C. *et al.* EXTRAIR SEM DESMATAR: A IMPORTÂNCIA DA CASTANHA DO PARÁ NA ECONOMIA BRASILEIRA. *In: SILVA, M. E. D. CONHECIMENTOS TEÓRICOS, METODOLÓGICOS E EMPÍRICOS PARA O AVANÇO DA SUSTENTABILIDADE NO BRASIL 2*, Ponta Grossa: Atena (PR), 2020.

SULEIMAN, K. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Ouriço de Castanha do Brasil**. Brasil: Brasília, 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/975001/ourico-de-castanha-do-brasil>. Acesso em: 19 ago. 2021.

TONINI, H; DA COSTA, P.; KAMINSKI, P. E. Estrutura e produção de duas populações nativas de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* O. Berg) em Roraima. **Floresta**, v. 38, n. 3, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rf.v38i3.12410>.

TORRES, L. R. O. *et al.* Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil attenuates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats: Antioxidant and anti-inflammatory effects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 97, p. 205-216, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.09.009>.

VIEIRA, E. C. Alimentos funcionais. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 13, n. 4, p. 260-262, 2003. Disponível em: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/1532>. Acesso em: 20. Set. 2021.



## APÊNDICE A



Universidade Federal de Campina Grande  
 Centro de Saúde e Tecnologia Rural  
 Comissão de Ética no Uso de Animais  
 Av. Santa Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia  
 Patos,  
 CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



A Sra: Juliana Késsia Barbosa Soares

Protocolo CE UA/CSTR N° 09/2020

## CERTIDÃO

Certificamos para os devidos fins que o projeto intitulado “**IMPACTO DO CONSUMO MATERNO DO ÓLEO DE CASTANHA DO PARÁ (Bertholletia excelsa) SOBRE OS PARÊMTROS DE ANSIEDADE E MEMÓRIA NA PROLE DE RATOS**”, coordenado pelo (a) pesquisador (a) acima citado (a), obteve parecer consubstanciado pelo regulamento interno deste comitê, sendo **APROVADO**, em caráter de **ad referendum**, estando a luz das normas e regulamento vigentes no país, atendidas as pesquisas para especificações científicas.

Patos, 11 de novembro de 2020.

Prof. Dr. Valdir Morais de Almeida

UFCG / Campus Patos

SIAPE 1406222

Prof. Valdir Morais De Almeida  
 Coordenador do CEP/CEUA/UFCG/CSTR