



# TOTAL PHENOL CONTENTS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF BERTHOLLETIA EXCELSA, AMAZONIAN ALMONDS FROM BOLIVIA

Juan Carlos Callisaya A., Juan Antonio Alvarado K.

Department of Chemistry, Instituto de Investigaciones Químicas IIQ, Centro de Estudios e Investigaciones en Química de Alimentos CEIQA, Universidad Mayor de San Andrés UMSA, P.O. Box 303, Calle Andrés Bello s/n, Ciudad Universitaria, Cota Cota, Phone 59122792238, La Paz, Bolivia, jkallisaya34@gmail.com, jaalvki@gmail.com

**Keywords:** *Antioxidant activity, Phenolic compounds, Bertholletia excelsa, Lecythydaceae*

## ABSTRACT

*Bertholletia excelsa* (Lecythydaceae), amazonian almonds from Bolivia or Brazil nuts is an economically important plant in the Bolivian Amazonian region. It has a significant content of bioactive compounds with antioxidant properties such as vitamin C, E,  $\beta$ -carotenes and a complex mixture of phenolic compounds. It is very susceptible to oxidative deterioration, which is the biggest problem in this type of food, with the altering of the texture, appearance, flavor and aroma. However, the high content of phenolic compounds inhibits lipid oxidation of these nuts, depending on the variation of the characteristic physical and chemical parameters. The aim of this study is to determine the total phenolic contents and the total antioxidant capacity "TAC" acceleration, induced at different temperatures in the Bolivian Amazon almond (*Bertholletia excelsa*). According to the experimental design, 2-4 almonds are submitted for each heat treatment. Every forty days, the total antioxidant capacity "TAC" (using the ABTS, DPPH and FRAP assays) is determined and the total phenolic content quantified.

The total antioxidant capacity (ABTS assay) irregularly varies depending on the time and temperature. The FRAP and DPPH assays show a decay of antioxidants depending on the day and the temperature gradient, (25 °C and 45 °C). Depending on the conditions of storage, the antioxidant activity reflects a stable contents of total phenols at temperatures of 20 °C and -80 °C. At 25 °C and 45 °C there is an accelerated decay in the phenol total contents in time.

\*Corresponding author: [jkallisaya34@gmail.com](mailto:jkallisaya34@gmail.com)

## RESUMEN

**Spanish title:** *Contenido total de fenoles y capacidad antioxidante de Bertholletia excelsa, almendra amazónica de Bolivia. Bertholletia excelsa*, almendra amazónica de Bolivia o nuez de Brasil es una planta económicamente importante de la Amazonia boliviana. Tiene un contenido importante de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante como la vitamina C, E,  $\beta$ -caroteno y una mezcla compleja de compuestos fenólicos. Es muy susceptible al deterioro oxidativo, que es el mayor problema en este tipo de alimentos, alterando la textura, apariencia, sabor y aroma. Sin embargo, el alto contenido de compuestos fenólicos inhibe la oxidación lipídica de estos frutos secos, dependiendo de la variación de los parámetros físicos y químicos característicos. El objetivo de este estudio es determinar el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante total "TAC" por aceleración inducida a diferentes temperaturas en la almendra amazónica boliviana (*Bertholletia excelsa*). De acuerdo al diseño experimental se procede a la toma de 2 a 4 nueces de almendra para cada tratamiento térmico, cada cuarenta días; procediéndose a determinar la capacidad antioxidante total "TAC" (mediante los ensayos ABTS, DPPH y FRAP) y a cuantificar el contenido de Fenoles Totales.

Los resultados de la capacidad antioxidante total "TAC" para el ensayo ABTS varían de forma irregular en función de los variables tiempo y temperatura. En tanto que para los ensayos FRAP y DPPH, muestran un decaimiento del contenido de antioxidantes en función a los días, su comportamiento en relación a las temperaturas, donde el decaimiento de la actividad antioxidante a las temperaturas de 25 y 45 °C es notoriamente diferente. Dependiendo de las condiciones de almacenamiento, el contenido de fenoles totales a temperaturas de 20 y -80 °C presenta un comportamiento más estable en función del tiempo y temperatura, pero a temperaturas de 25 y 45 °C hay un decaimiento acelerado de la actividad antioxidante en el tiempo.



## INTRODUCCION

Los frutos secos, en especial almendras y nueces presentes en la dieta, muestran un efecto protector contra algunas enfermedades según varios estudios realizados donde se han identificado como fuente rica en antioxidantes. [1, 2,3]. La empresa Tahuamanu S.A. ubicada en el departamento de Pando al norte de Bolivia, se especializa en el beneficiado de la almendra amazónica o nuez de Brasil "*Bertholletia excelsa*" sin cáscara, un fruto nutritivo y abundante de los bosques nativos cálidos y húmedos del norte amazónico.

Actualmente los compuestos fenólicos han atraído la atención de los investigadores debido a sus muchos potenciales beneficios a la salud. Se ha demostrado que éstos tienen acción antibacteriana, anticarcinogénica, antiviral, antiinflamatoria, y vasodilatadora. [4,5,6,7]

Estas propiedades se deben a la presencia de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante como la vitamina C, vitamina E, carotenos y una mezcla compleja de compuestos fenólicos. Debido a que el estrés oxidativo es común en las enfermedades degenerativas, los antioxidantes dietarios de fuentes vegetales pueden proveer un efecto benéfico a la salud.

Se han realizado pocos estudios respecto a la actividad antioxidante y los constituyentes fenólicos de las nueces de árbol, la nuez de la almendra amazónica o nuez de Brasil "*Bertholletia excelsa*" y derivados. La almendra amazónica o nuez de Brasil "*Bertholletia excelsa*" es producida por un árbol que pertenece a la familia de las Lecythidaceae que crece de forma natural y silvestre en los bosques tropicales amazónicos de América del Sur compartidos entre Venezuela, Colombia, Ecuador, Bolivia, Perú, Guayana y Brasil, [8]

Los compuestos fenólicos actúan como antioxidantes en virtud de las propiedades de donador de hidrógeno de sus grupos hidroxilo fenólicos, [9] así como donador de electrones para detener las reacciones en cadena de los radicales libres. [10]

Las almendras contienen flavonoides incluyendo catequinas, flavonoles y flavononas en la forma de aglucona y glucósidos. [11, 12] Las nueces contienen diferentes ácidos fenólicos como el ácido gálico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico y ácido sinápico; todos ellos en sus dos formas libre y esterificada, [13] mientras que el aceite de las nueces contiene una amplia variedad de fenólicos como los tocoferoles y no-flavonoides tal como elagitaninos. [14]. También contiene una cantidad sustancial de niacina, vitamina E, vitamina B6, calcio, hierro, potasio, cinc, cobre, arginina y flavonoides, además de ser fuente natural de selenio. [15]. La almendra amazónica o nuez de Brasil tiene amplias propiedades nutricionales y funcionales además de ser una fuente potencial de antioxidantes naturales, las nueces son fuentes de nutrientes como lípidos, proteína, fibra, selenio, magnesio, fósforo y tiamina.

Este trabajo se ha enfocado en cuantificar el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante total por aceleración inducida a diferentes temperaturas en la almendra amazónica o nuez de Brasil "*Bertholletia excelsa*". Nuestra hipótesis: que los antioxidantes disminuyen en función del tiempo y temperatura, y nos interesa determinar el porqué disminuyen y asimismo averiguar de qué manera estos factores están involucrados en la oxidación de las almendras.

## EXPERIMENTAL

### *Materiales y métodos*

#### *Productos químicos*

Reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico, carbonato de sodio y acetona (p.a.) fueron adquiridos de Merck (Darmstadt, Germany). ABTS [2,2'-azinobis (3-ethylbenzotiazoline-6-sulphonic acid)], persulfato de potasio, trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, 97%), TPTZ (2,4,6-trypiridyl-s-triazine), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) adquirido de ICN Biomedicals Inc. (Costa Mesa, CA, USA), ácido acético (glacial p.a.) y acetato de sodio de BDH Chemicals Ltd. (Poole, UK).

#### *Colecta de muestras*

Las almendras amazónicas "*Bertholletia excelsa*" fueron colectadas de la empresa Tahuamanu (Departamento de Pando, Figura 1) y se encontraban selladas, en atmósfera controlada de  $\text{CO}_2$ , libre de aire en bolsas plásticas. Recepcionadas las muestras fueron congeladas inmediatamente en un congelador a una temperatura de  $-80^\circ\text{C}$ .

### Diseño experimental

Para el estudio de la almendra amazónica boliviana se diseñó un proceso de simulación cinética a diferentes temperaturas:  $-80$ ,  $20$ ,  $25$  y  $45$  °C proceso llamado aceleración inducida, donde cada 40 días se procede a tomar 5 o 6 gramos de muestra a las temperaturas de estudio (Diagrama 1) hasta completar un tiempo final de 200 días. El proceso de aceleración inducida se inició colocando aproximadamente 200 g de castaña en frascos de vidrio (5 muestras de estudio), los cuales fueron cerrados y se colocaron en estufas a las diferentes temperaturas de estudio y de los cuales se fueron extrayendo muestras de análisis cada 40 días. Al inicio del estudio se procedió a realizar el análisis de los diferentes ensayos para posteriormente proceder a cuantificarlos y obtener los datos iniciales a tiempo cero.

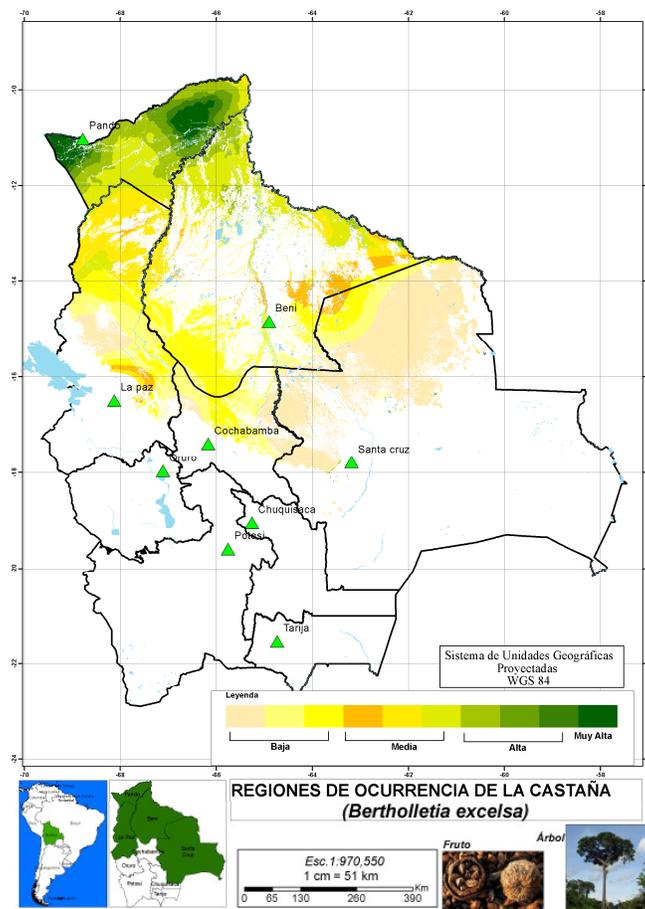


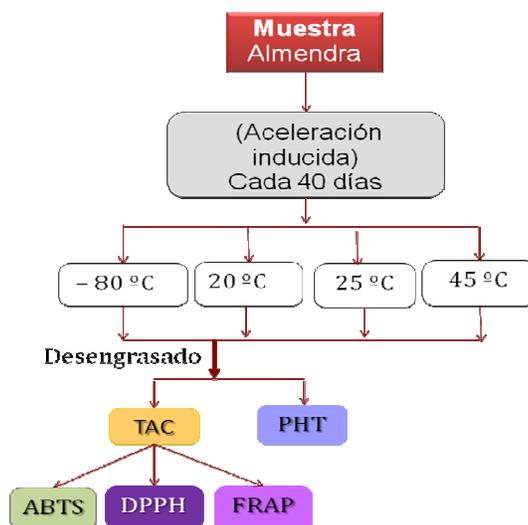
Figura 1: Mapa de regiones de ocurrencia de la castaña en Bolivia.

### Obtención del extracto etanólico

Para obtener el extracto etanólico de las nueces, se procedió a tomar cinco a seis de cada muestra almacenada a diferente temperatura  $-80$ ,  $20$ ,  $25$  y  $45$  °C, que fueron molidas en un homogenizador, para luego proceder al desengrasado con éter de petróleo. Luego, la mezcla resultante fue separada y secada, obteniéndose una torta de almendra libre de grasas. Las muestras desengrasadas (torta) son tratadas con etanol destilado, obteniéndose así el extracto etanólico que fue almacenado a  $-20$ °C, para posteriormente realizar los análisis respectivos de la TAC para cada extracto obtenido a diferentes temperaturas.

### Mediciones de la capacidad antioxidante total

La capacidad antioxidante total fue medida por los métodos ABTS, DPPH y FRAP en un espectrofotómetro UV-visible de doble haz Pekín Elmer modelo Lambda. El trolox utilizado es semejante al estándar análogo de alfa tocoferol.



**Diagrama 1.** Análisis de la estabilidad oxidativa, capacidad antioxidante total y contenido de fenoles totales.

#### Método ABTS

Este ensayo emplea una solución acuosa de 2,2-azinobis (etilbenzotiazolin-6-sulfonato) (ABTS) (7 mM) oxidada con persulfato de potasio 2,45 mM. La solución de ABTS se diluye con solución tampón fosfato salino de pH=7.4 hasta una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. La curva de calibración del estándar se construye con trolox a diferentes concentraciones. Una alícuota de cada muestra se mezcla con 1 mL de la solución del radical catión ABTS en un tubo, para luego leer su absorbancia. El decaimiento en la absorbancia causado por la adición de muestra es comparado con la de la curva estándar donde se utiliza el trolox. [18]

#### Método DPPH

El reactivo DPPH se prepara con etanol hasta que su absorbancia sea igual a  $0.70 \pm 0.02$ , para la reacción se prepara 1 mL del reactivo y se añade 100  $\mu$ L de la muestra, se lee la absorbancia en dos tiempos, tiempo inicial o cero y a los 15 minutos de acuerdo a un barrido de pico máximo encontrado en el laboratorio y medido a una longitud de onda de 519 nm.

#### Método FRAP

A 900  $\mu$ L de reactivo, se agregan 90  $\mu$ L de agua y 30  $\mu$ L de muestra, se homogeniza y la absorbancia se lee a 593 nm luego de la reacción. El blanco consiste en 120  $\mu$ L de agua y 900  $\mu$ L de reactivo. Las absorbancias de cada muestra se comparan con una curva estándar preparada con Trolox 100-1000  $\mu$ mol/L. [18]

#### Medición del contenido de fenoles totales "TPC"

El contenido de fenoles totales "TPC" (Total Phenolics Contents) es determinado usando el reactivo de Folin – Ciocalteu que oxida los componentes fenolicos a fenolatos a pH alcalino en una solución saturada de carbonato de sodio resultando un complejo azul de molibdeno-wólfam. Se toma 1 mL de este reactivo, se añade 20  $\mu$ L de la muestra, 500  $\mu$ L de solución saturada de carbonato de sodio y tras el homogenizado por 10 segundos se incuba por 30 minutos a 45°C. La absorbancia se lee a 765 nm después de su enfriamiento a temperatura ambiente (ver anexo 4). La absorbancia de cada muestra fue comparada con una curva estándar de ácido gálico desde 20 a 100  $\mu$ g/L.

### Análisis estadístico

Los resultados para todos los métodos: ABTS, DPPH, FRAP, contenido de fenoles totales se muestran como valores promedios y  $\Delta X$  de 9 réplicas medidas en tres días. Los coeficientes de correlación lineal son calculados acorde al método de Pearson. Todos los cálculos han sido realizados con software Excel.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Método ABTS

Los resultados de la actividad antioxidante para el ensayo ABTS en extractos etanólicos de la almendra amazónica (Tabla 1, Figura 2) nos muestran que la actividad antioxidante varía de forma irregular en función a las variables de tiempo y temperatura. Se observa que la actividad antioxidante para todas las muestras almacenadas a las temperaturas de estudio para un tiempo de 40 días decayó ligeramente, posteriormente se observó que a 120 días la actividad antioxidante muestra un ascenso—probablemente debido a liberación de compuestos fenólicos provenientes de la película lignocelulósica— en la etapa final la actividad antioxidante muestra un decaimiento durante el proceso de oxidación acelerada.

En varios estudios se utilizaron nueces enteras (piel y bayas o granos de nuez) donde los resultados muestran que la piel contiene muchos de los polifenoles y que además en las bayas de nuez se notó la presencia de tocoferoles. [17] Otros estudios, muestran que los antioxidantes de las nueces no se limitan a la reducción de la peroxidación lipídica sino que mejoran la capacidad antioxidante. [16]. De acuerdo a trabajos anteriores, en el presente estudio la película o piel marrón de la almendra amazónica muy probablemente juega un rol importante como fuente de polifenoles, y por ende como atrapador de radicales libres influyendo en la actividad antioxidante como se observa en el ensayo ABTS. En cuanto al contenido de tocoferoles y su influencia en la actividad antioxidante, éste es dado por su presencia en el aceite. Otro aspecto a considerar es el potencial antioxidante del selenio en la almendra amazónica, por lo que este alimento puede ser utilizado como ingrediente tanto en alimentos funcionales como en cosméticos.

Tabla 1. Decaimiento de la actividad antioxidante para el ensayo ABTS [ $\mu\text{mol/g}$ ]

Temperatura	0 días	40 días	80 días	120 días	160 días	200 días
°C    °K	ABTS [ $\mu\text{mol/g}$ ]; $X_{\text{prom}} \pm \Delta X$					
45    318	1,247 $\pm$ 0,0058	1,1805 $\pm$ 0,0004	1,1906 $\pm$ 0,0025	1,8559 $\pm$ 0,0028	2,5389 $\pm$ 0,0098	0,9186 $\pm$ 0,0033
25    298	1,247 $\pm$ 0,0058	1,3186 $\pm$ 0,0009	1,2781 $\pm$ 0,0022	2,5097 $\pm$ 0,0772	1,5714 $\pm$ 0,0075	1,2862 $\pm$ 0,0050
20    293	1,247 $\pm$ 0,0058	0,8362 $\pm$ 0,0010	1,4176 $\pm$ 0,0044	2,2254 $\pm$ 0,0046	0,8762 $\pm$ 0,0055	1,2849 $\pm$ 0,0014
-80    193	1,247 $\pm$ 0,0058	1,0611 $\pm$ 0,0007	1,3024 $\pm$ 0,0037	2,0360 $\pm$ 0,0035	1,2001 $\pm$ 0,0048	1,4688 $\pm$ 0,0022

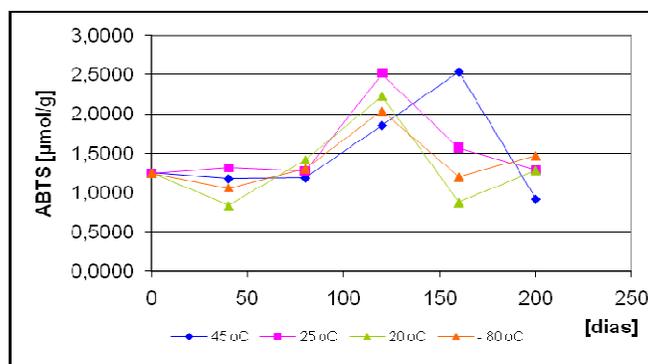


Figura 2. Decaimiento de la actividad antioxidante, ensayo ABTS [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]

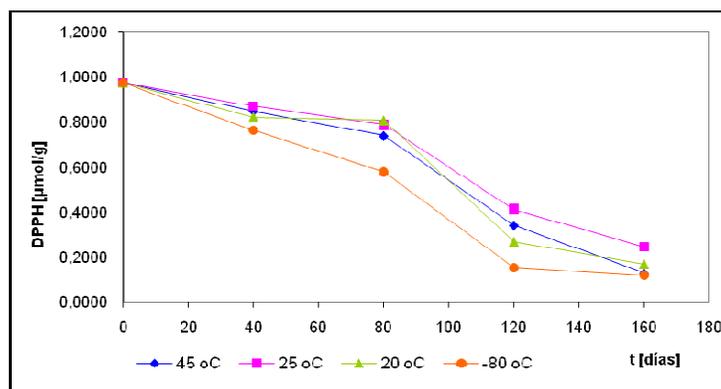


### Método DPPH

La tabla 2 y la Figura 3, nos muestran que la actividad antioxidante en extractos de almendra amazónica para el ensayo DPPH durante el proceso térmico de aceleración inducida a las diferentes temperaturas, así como el contenido de antioxidantes, disminuye gradualmente observándose que las pérdidas son mayores al aumentar el tiempo y la temperatura del tratamiento.

**Tabla 2.** Decaimiento de la actividad antioxidante para el ensayo DPPH [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]

Temperatura	0 días	40 días	80 días	120 días	160 días	200 días	
$^{\circ}\text{C}$	$^{\circ}\text{K}$	DPPH [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]; $X_{\text{prom}} \pm \Delta X$					
45	318	0,972 $\pm$ 0,050	0,847 $\pm$ 0,021	0,737 $\pm$ 0,074	0,341 $\pm$ 0,076	0,130 $\pm$ 0,049	0,092 $\pm$ 0,044
25	298	0,972 $\pm$ 0,050	0,870 $\pm$ 0,021	0,788 $\pm$ 0,032	0,412 $\pm$ 0,088	0,246 $\pm$ 0,074	0,156 $\pm$ 0,067
20	293	0,972 $\pm$ 0,050	0,820 $\pm$ 0,043	0,806 $\pm$ 0,040	0,269 $\pm$ 0,088	0,170 $\pm$ 0,050	0,088 $\pm$ 0,040
-80	193	0,972 $\pm$ 0,050	0,763 $\pm$ 0,020	0,578 $\pm$ 0,030	0,154 $\pm$ 0,068	0,121 $\pm$ 0,007	0,076 $\pm$ 0,057



**Figura 3.** Decaimiento de la actividad antioxidante, ensayo DPPH [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]

### Método FRAP

Los resultados de la actividad antioxidante total (TAC) evaluada para el ensayo FRAP, nos muestran un decaimiento en función a los días, pero un comportamiento relativamente similar en relación a las temperaturas de simulación; ver tabla 3, Figura 4. No se presenta una correlación directa con la temperatura de tratamiento.

**Tabla 3.** Decaimiento de la actividad antioxidante ensayo FRAP [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]

Temperatura	0 días	40 días	80 días	120 días	160 días	200 días	
$^{\circ}\text{C}$	$^{\circ}\text{K}$	FRAP [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]; $X_{\text{prom}} \pm \Delta X$					
45	318	2,0085 $\pm$ 0,0017	0,6315 $\pm$ 0,0014	0,5961 $\pm$ 0,0012	0,5771 $\pm$ 0,0011	0,4686 $\pm$ 0,0007	0,4671 $\pm$ 0,0003
25	298	2,0085 $\pm$ 0,0017	1,0795 $\pm$ 0,0013	1,0198 $\pm$ 0,0020	1,0369 $\pm$ 0,0007	0,5757 $\pm$ 0,0014	0,5717 $\pm$ 0,0009
20	293	2,0085 $\pm$ 0,0017	1,4275 $\pm$ 0,0012	1,3626 $\pm$ 0,0011	1,1508 $\pm$ 0,0003	1,0215 $\pm$ 0,0014	1,0212 $\pm$ 0,0011
-80	193	2,0085 $\pm$ 0,0017	0,6992 $\pm$ 0,0011	0,6414 $\pm$ 0,0016	0,6157 $\pm$ 0,0014	0,6031 $\pm$ 0,0007	0,5931 $\pm$ 0,0005

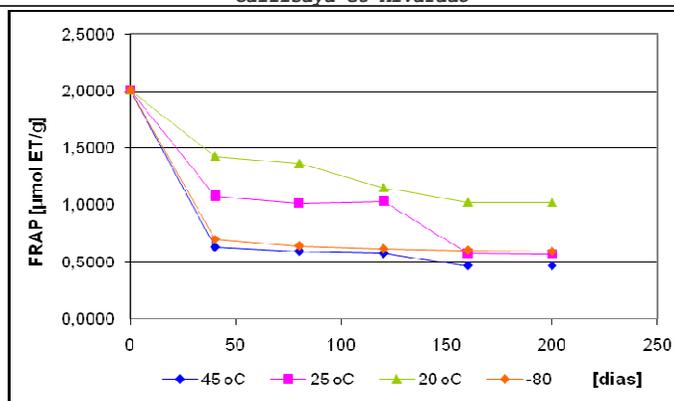


Figura 4. Decaimiento de la actividad antioxidante ensayo FRAP [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]

### Contenido de fenoles totales “TPC”

La cuantificación del contenido de fenoles totales mediante el ensayo de Folin Ciocalteu nos muestra que a temperaturas de 20 y -80 °C se presenta un comportamiento similar en función del tiempo y la temperatura, pero las gráficas nos permiten inferir —para el reactivo de Folin— un cambio de cinética al pasar de 20°C a temperaturas mayores en las que el decaimiento se hace más acelerado como se aprecia en la tabla 4 y Figura 5.

Tabla 4. Decaimiento de Fenoles totales [ $\mu\text{mol GAE/g}$ ]

Temperatura		0 días	40 días	80 días	120 días	160 días	200 días
°C	°K	Fenoles totales [ $\mu\text{mol GAE/g}$ ]; $X_{\text{prom}} \pm \Delta X$					
45	318	0,7261 $\pm$ 0,0003	0,4612 $\pm$ 0,0005	0,4229 $\pm$ 0,00010	0,4187 $\pm$ 0,00011	0,3979 $\pm$ 0,00011	0,3213 $\pm$ 0,0007
25	298	0,7261 $\pm$ 0,0003	0,5219 $\pm$ 0,0001	0,4908 $\pm$ 0,00011	0,4892 $\pm$ 0,00010	0,3252 $\pm$ 0,00017	0,3141 $\pm$ 0,0006
20	293	0,7261 $\pm$ 0,0003	0,6520 $\pm$ 0,0001	0,6256 $\pm$ 0,00017	0,6233 $\pm$ 0,00005	0,6248 $\pm$ 0,00017	0,6058 $\pm$ 0,0003
-80	193	0,7261 $\pm$ 0,0003	0,7171 $\pm$ 0,0003	0,6933 $\pm$ 0,00008	0,6934 $\pm$ 0,00020	0,6926 $\pm$ 0,00014	0,6904 $\pm$ 0,0009

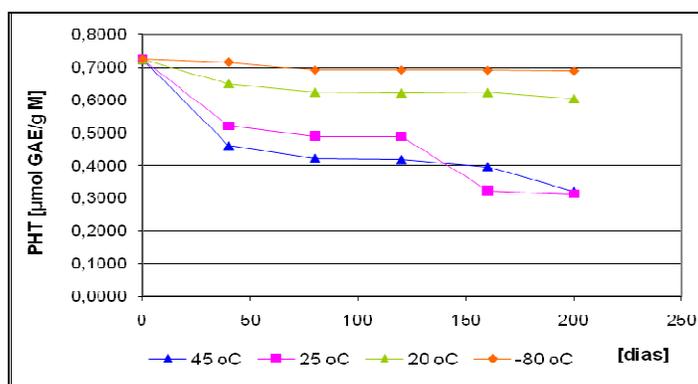


Figura 5. Decaimiento de Fenoles totales [ $\mu\text{mol GAE/g}$ ]

## CONCLUSIONES

La actividad antioxidante para el ensayo ABTS varía de forma irregular en función a tiempo y temperatura, por lo tanto se debe considerar la ocurrencia simultánea de otras reacciones, dado lo complejo del producto analizado. Los



resultados obtenidos para el ensayo ABTS de acuerdo a la gráfica 1 y tabla 1 incidirían mejorando la capacidad antioxidante y evitando así una oxidación rápida de las almendras.

Para los ensayos DPPH y FRAP se puede concluir que la degradación de los antioxidantes depende del tiempo y a su vez de la temperatura debido a su incremento en el proceso de aceleración inducida. Repercutiendo en la estabilidad de la almendra amazónica.

La cuantificación de Fenoles Totales mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu, muestra que la degradación del contenido de fenoles totales a -80 y 20 °C de temperatura es mucho menor, siendo las nueces más estables frente a la degradación, mientras que a 25 y 45 °C de temperatura la degradación es más acelerada y pronunciada. Por lo tanto de acuerdo a los resultados obtenidos por este método como era de esperar la temperatura más baja repercute en una mayor estabilidad oxidativa de la almendra amazónica.

La piel marrón es una fuente importante de polifenoles que ejercen una actividad antioxidante como atrapador de radicales libres. Por ende, los tocoferoles y el selenio contenidos en los liposomas de la torta también contribuyen a la actividad antioxidante de la almendra amazónica como se observa en el comportamiento de la actividad antioxidante para el ensayo ABTS. Asimismo el potencial antioxidante de la almendra amazónica puede ser utilizado como ingrediente de alimentos funcionales

## RECONOCIMIENTOS

Este trabajo ha sido apoyado por la Agencia de Desarrollo Internacional Sueca (SIDA) dentro del Convenio UMSA-ASDI de cooperación del IIQ de la Universidad Mayor de San Andrés y la Empresa Tahuamanu S.A. representada por el Ing Oscar Farfán, con un importante aporte de Enrique Nelkenbaum a quienes va nuestro especial reconocimiento.

## REFERENCIAS

1. Weisburger, J.H. **1999**, Mechanism of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes, and tea, *Food Chem. Toxicol.*, *37*, 943-948.
2. Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M.C. **2002**. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants, *The Journal of Nutrition*, *132*, 461-471.
3. Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Prior, R.L. **2004**. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*, 4026-4037.
4. Breinholt, V. *Desirable versus harmful levels of intake of flavonoids and phenolic acids*. In: *Natural antioxidants and anticarcinogens in nutrition, health and disease*, ed by J. Kumpulainen and J. E. Salonen, **1999**, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 93-105.
5. Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.A.M. **2000**, Plant Polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutrition Research Reviews*, *13*, 79-106.
6. Shahidi, F., & Naczk, M., *Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications*, Technomic Publishing Co. Inc.. **1995**, Lancaster, PA, USA.
7. Shahidi, F., & Naczk, M., *Phenolics in food and nutraceuticals*, **2004**, CRC, Press Boca Raton, USA.
8. Augstburger F, Berger J. *Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico*. 1ra ed. Alemania; Asociación Naturland; 2000: 1-3.
9. Lindsay, D. G., & Astley, S. B. **2002**. European research on the functional effects of dietary antioxidants – EUROFEDA. *Molecular Aspects of Medicine*, *23*, 1-38.
10. Bajpai, M., Pande, A., Tewari, S. K., & Prashad, D. **2005**. Phenolic content and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *4*, 287-291.
11. Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W. S., Lachance, P. A., Ho, C. T., & Rosen, R. T. **2002**. Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus Batsch*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 2459-2463.
12. Wijeratne, S. S., Abou-Zaid, M. M., & Shahidi, F. **2006**. Antioxidant polyphenols in almond and its co products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*, 312-318.
13. Shahidi, F., Alasalvar, C., & Liyana-Pathirana, C. M. **2007**. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana L.*) and hazelnut byproduct. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 1212-1220.
14. Anderson, K. J., Teuber, S. S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse, A. L., & Steinberg, F. M. **2001**. Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. *The Journal of Nutrition*, *131*, 2837-2842.
15. Chunhieng, T., Goli, T., Piombo, G., Pioch, D., Brochier, J., & Montet, D. **2004**. Recent analysis of the composition of Brazil nut: *Bertholletia excelsa*. *Bois et Forêts des Tropiques*, *280*, 91-98.
16. Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Josse, A.R., Salvatore, S., Brighenti, F., Augustin, L.S.A., Ellis, P.R., Vidgen, E., Rao, A.V. **2006**. Almonds decrease postprandial glycemia, insulinemia, and oxidative damage in healthy individuals. *J Nutr.*, *136*, 2987-92.



17. Yu, J., Vasanthan, T., & Tamelli, F. **2001**. Analysis of phenolic acids in barley by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*, 4352-4360.
18. Peñarrieta, J. M., Alvarado, J. A., Åkesson, B., Bergenståhl, B. **2008**. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): an Andean pseudocereal. *Mol. Nutr. Food Res.*, *52*, 708-717.