



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**INTERAÇÃO ENTRE AFLATOXINAS, SELÊNIO E
RADIOATIVIDADE EM CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia
excelsa*)**

MARISTELA MARTINS

**MANAUS
2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

MARISTELA MARTINS

**INTERAÇÃO ENTRE AFLATOXINAS, SELÊNIO E
RADIOATIVIDADE EM CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia
excelsa*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos, área de concentração: Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Ariane Mendonça Pacheco

**MANAUS
2010**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAM

M386i Martins, Maristela

Interação entre aflatoxinas, selênio e radioatividade em castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) / Maristela Martins. - Manaus, AM : UFAM, 2010.

91 f. : il. color. ; 30 cm

Inclui referências.

Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos. Área de concentração: Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Amazonas.

Orientadora: Profa. Dra. Ariane Mendonça Pacheco.

1. Castanha-do-Pará - Análise 2. Tecnologia de alimentos 3. Alimentos – Análise 4. Selênio - Análise 5. Aflatoxina – Análise I. Pacheco, Ariane Mendonça (Orient.) II. Título

CDU (2007): 634.575:664.8/.9(043.3)

MARISTELA MARTINS

**INTERAÇÃO ENTRE AFLATOXINAS, SELÊNIO E
RADIOATIVIDADE EM CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia
excelsa*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos, área de concentração: Tecnologia de Alimentos.

Apresentada em: 23 de junho de 2010.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Ana Cyra dos Santos Lucas
Universidade Federal do Amazonas

Prof^a Dr^a Ormezinda Celeste Cristo Fernandes
Fundação Osvaldo Cruz

Prof^o Dr^o José Merched Chaar
Universidade Federal do Amazonas

DEDICO

Aos meus pais

“Se um dia já homem feito e realizado, sentires que a terra cede aos teus pés, obras se desmoronam, que, não há ninguém à tua volta para te estender a mão, esquece tua maturidade, passa pela tua mocidade volta à tua infância e balbucia, entre lágrimas e esperanças, as últimas palavras que te restarão na alma: minha mãe, meu pai.”

Rui Barbosa

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre esteve presente em minha vida, dando-me força de vontade, sabedoria e saúde.

A Dra Ariane Mendonça Pacheco pela oportunidade, atenção e dedicação.

Agradeço aos meus pais, Arlindo e Marilene, e à minha irmã, Mariléia, pelo eterno apoio, incentivo e carinho que sempre me dedicaram.

Ao meu amor, Joel Fabrício, por sempre estar ao meu lado me oferecendo apoio, atenção e carinho, e principalmente por me agüentar com tanta paciência nos momentos de stress.

Aos doutores: Avacir Casanova Andrello, Carlos Roberto Appoloni, e Viviane Scheibel pelas contribuições e sugestões no decorrer deste trabalho.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Amazonas e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo suporte financeiro.

RESUMO

A segurança alimentar é um importante aspecto a ser alcançado pela indústria de alimentos e a contaminação de alguns produtos, como a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H. B. K.), causada por aflatoxinas e radioatividade tem sido evidenciada em diversos estudos. Composto natural da castanha-do-Brasil, o selênio constitui um elemento apreciado pela ação antioxidante, presente em grandes quantidades em alguns alimentos, como, por exemplo, em nozes de árvores. Entretanto, é um elemento bastante estudado devido à ambigüidade de sua ação, benéfica ou tóxica em organismos. Considerando estes aspectos, amostras de castanha-do-Brasil classificadas em diferentes tamanhos, sem casca, tipo exportação foram avaliadas com o objetivo de estudar a interação dos níveis de radioatividade, selênio e a contaminação por aflatoxinas. A análise de selênio foi realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP/OES), utilizando o método de emissão atômica. O limite de detecção (LOD) foi de 1,50 µg/g, e o limite de quantificação (LOQ) foi de 3,00 µg/g. As análises de aflatoxinas foram realizadas por espectrometria de massa/massa (MS/MS) acoplado a um cromatógrafo líquido (LC) com Ionização Química à Pressão Atmosférica (APCI). Os limites de detecção (LD) e de Quantificação (LQ) para ΣAFLs foram: 0,3 e 0,85 µg/kg, respectivamente. Os traços radioativos dos radionuclídeos ^{228}Ra , ^{226}Ra e ^{224}Ra foram medidos por espectrometria gama, empregando-se um detector HPGe modelo GEM-M 7080-P-S, ORTEC, de 66% de eficiência relativa. Os níveis de Se variaram entre 9,4 e 39,0 µg/g±7,36, com média de 22,71 µg/g. As atividades médias para os radionuclídeos estudados foram: 15,77 Bq/kg para o ^{224}Ra , 104,81 Bq/kg para o ^{226}Ra e 99,48 Bq/kg para o ^{228}Ra . Os níveis de Se não apresentaram diferença significativa entre os diferentes tamanhos, assim como o ^{226}Ra . Já o ^{224}Ra e o ^{228}Ra apresentaram diferenças entre os tamanhos. Não houve associação estatística significativa entre o nível de selênio e a atividade dos radionuclídeos, no entanto, houve correlação com os radionuclídeos entre si. Nenhuma amostra apresentou contaminação por aflatoxinas. Todas as doses efetivas comprometidas calculadas para os radionuclídeos estão abaixo do limite máximo estabelecido.

Palavras-chave: radionuclídeos, selênio, aflatoxinas, *Bertholletia excelsa*.

ABSTRACT

Food safety is an important aspect to be achieved by the food industry and the contamination of some products, such as the Brazil-nut (*Bertholletia excelsa* HBK), caused by aflatoxin and radioactivity has been shown in several studies. Natural compound of Brazil-nut, selenium is an element considered by the antioxidant present in large amounts in some foods, for example, in tree nuts. However, it is an element widely studied because of the ambiguity of his actions, beneficial or toxic effects on organisms. Considering these aspects, samples of nuts from Brazil classified in different sizes, shelled, export were evaluated with the aim of studying the interaction of levels of radioactivity, selenium and aflatoxin contamination. The analysis of selenium was performed by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP / OES), using the method of atomic emission. The limit of detection (LOD) was 1.50 g/g, and the limit of quantification (LOQ) was 3.00 g/g. The analysis of aflatoxins were performed by mass spectrometry / mass (MS / MS) coupled to a liquid chromatograph (LC) with atmospheric pressure chemical ionization (APCI). The limits of detection (LOD) and quantification (LQ) for Σ AFLs were 0.3 and 0.85 mg/kg, respectively. Traces of radioactive radionuclide ^{228}Ra , ^{226}Ra and ^{224}Ra were measured by gamma spectrometry, using a HPGe detector GEM-M 7080-PS, ORTEC, 66% relative efficiency. If levels ranged between 9.4 and 39.0 mg/g \pm 7.36, mean of 22.71 mg/g. The average activity for the radionuclides studied were 15.77 Bq/kg for ^{224}Ra , 104.81 Bq/kg for ^{226}Ra and 99.48 Bq/kg for ^{228}Ra . If the levels did not differ significantly between the different sizes, as well as ^{226}Ra . Already the ^{224}Ra and ^{228}Ra showed differences between the sizes. There was no statistically significant association between the level of selenium and the activity of radionuclides, however, correlated with each other radionuclides. No sample was contaminated by aflatoxin. All committed effective doses calculated for the radionuclides are below the ceiling.

Keywords: radionuclides, selenium, aflatoxins, *Bertholletia excelsa*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 A Castanheira-do-Brasil: (a) árvore da castanha-do-Brasil (<i>Bertholletia excelsa</i>); (b) fruto (ouriço) e sementes; (c) castanha-do-Brasil com casca e sem casca.....	17
Figura 2 Distribuição da Castanheira-do-Brasil entre as regiões (Oeste e Leste) da Bacia Amazônica.....	18
Figura 3 Municípios do Estado do Amazonas e atividades relativas à Castanha-do-Brasil....	19
Figura 4 Fluxograma de beneficiamento da castanha-do-Brasil.....	29
Figura 5 Estrutura química das aflatoxinas.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição química centesimal, teor de selênio e valor calórico da amêndoa e torta de amêndoa de castanha-do-Brasil.....	20
Tabela 2	Composição em ácidos graxos (%) do óleo extraído da castanha-do-Brasil.....	21
Tabela 3	Teor de minerais da castanha-do-Brasil.....	22
Tabela 4	Teor de Selênio em Castanha-do-Brasil.....	24
Tabela 5	Etapas da cadeia produtiva da castanha-do-Brasil.....	26
Tabela 6	Compostos radioativos em castanha-do-Brasil.....	37
Tabela 7	Fungos identificados em castanha-do-Brasil in natura e pós-processamento com ou sem casca, reportados na literatura.....	49
Tabela 8	Contaminação por aflatoxinas em castanha-do-Brasil.....	53
Tabela 9	Limites máximos permitidos para aflatoxinas em alimentos em diversos países...	56

LISTA DE ABREVIATURAS OU SÍMBOLOS

AFLs	Aflatoxinas
AFB1	Aflatoxina B ₁
AFB2	Aflatoxina B ₂
AFG1	Aflatoxina G ₁
AFG2	Aflatoxina G ₂
AOAC	Association of Official Analytical Chemistry
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
A_w	Atividade de Água
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPM	Boas Práticas de Manejo
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CHC	Carcinoma Hepatocelular
cm	Centímetros
DNA	Ácido desoxirribonucléico
FAO	Food and Agriculture Organization
G	Grama
Kg	Kilograma
Kcal	Quilocaloria
HPGe	Detectores de germânio hiperpuros
LC/MS/MS	Liquid chromatography mass/mass
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
mg	Miligrama
mL	Mililiter
nm	Nanômetro

pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
RNA	Ácido ribonucléico
Ton	Tonelada
µg	Micrograma
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 A Castanha-do-Brasil (<i>Bertholettia excelsa</i> H. B.K.).....	15
2.1.1. Distribuição e Características Nutricionais.....	15
2.1.2 Cadeia Produtiva da castanha-do-Brasil.....	25
2.1.3 Beneficiamento.....	26
2.1.4 Tecnologias aplicadas à cadeia produtiva.....	30
2.1.5 Qualidade da castanha-do-Brasil.....	31
2.1.6 O mercado da castanha-do-Brasil.....	33
2.2 Radioatividade.....	34
2.2.1 Radioatividade em alimentos.....	34
2.2.2 Radioatividade em castanha-do-Brasil.....	36
2.2.3 Espectrometria Gama.....	38
2.3 Aflatoxinas.....	38
2.3.1 Fatores que influenciam a produção de aflatoxinas.....	43
2.3.2 Contaminação por fungos em castanha-do-Brasil.....	47
2.3.3 Contaminação por aflatoxinas em castanha-do-Brasil	51
2.3.4 Legislação.....	55
2.3.5 Métodos de ensaios para aflatoxinas em castanha-do-Brasil.....	57
2.4 Referências Bibliográficas.....	58
3. ARTIGO	
CASTANHA-DO-BRASIL (<i>Bertholettia excelsa</i>): ELEMENTOS NATURAIS E	69
CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS.....	
3.1 Resumo.....	70
3.2 Introdução.....	71
3.3 Material e Métodos.....	74
3.4 Resultados e Discussão.....	77
3.5 Referências Bibliográficas.....	84
4. Considerações Finais.....	90

1. INTRODUÇÃO

A castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) é um alimento Amazônico, com relevante importância econômica e propriedades nutricionais. No entanto, está relacionada com a contaminação por aflatoxinas, metabólito cancerígeno, e necessita de esclarecimentos quanto ao impacto do seu teor radioativo na saúde do consumidor, já que é um alimento com larga concentração de Bário e Rádio (TURNER *et al.*, 1958; SMITH, 1971).

Devido ao elevado teor protéico, calórico e lipídico, a castanha-do-Brasil está incorporada na alimentação culinária da região Norte brasileira, e tem alcançado novos grupos de consumidores. Dentre esses, se destacam os que buscam uma dieta rica em antioxidantes, que na castanha-do-Brasil, com teor de Selênio (Se) superior às de outras nozes de árvores, atrai apreciadores da dieta naturalista, esportistas, idosos e tem levado ao desenvolvimento de novos produtos por parte da indústria de alimentos.

Por outro lado, devido à preocupação com a saúde do consumidor e às restrições comerciais impostas por outros países, houve necessidade de instituir mecanismos que garantissem a segurança na cadeia produtiva, devido ao relato oficial da Comunidade Européia (EU, 1998) quanto à contaminação em lotes exportados de castanha-do-Brasil.

Houve então, a determinação do limite máximo de 4 µg/Kg (aflatoxina total) para exportação que gerou um gargalo comercial, com redução da exportação para a Europa. Desde então, os principais Estados brasileiros exportadores (Amazonas, Pará e Acre), passaram a destinar o produto a novos mercados, como os países asiáticos, e intensificaram o comércio no mercado interno, com uma atividade que a cada safra envolve cerca de 100.000 pessoas.

A associação da contaminação por aflatoxinas e a castanha-do-Brasil representa preocupação não só com o aspecto comercial, mas principalmente com a saúde pública, pois são substâncias carcinogênicas (IARC, 1997), produzidas em condições ambientais específicas, isto é, semelhantes às da região Amazônica (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

De um modo geral, as pesquisas em castanha-do-Brasil têm abordado os aspectos micológicos e a ocorrência de aflatoxinas. Entretanto, é necessária cautela, em associar a contaminação à castanha, já que os métodos de amostragem e de análise laboratorial são determinantes na elaboração de hipótese, e a contaminação também parece ser dependente da safra, da deterioração da castanha, e do teor de compostos que influenciam o metabolismo

fúngico (CASTRILLÓN; PURCHIO, 1988; STEINER et al, 1992; CALDAS et al., 2002; SCUSSEL, 2004; ARRUS et al., 2005b; PACHECO; SCUSSEL, 2007).

Apesar de nutritiva, a castanha-do-Brasil possui elementos radioativos, como o Bário e o Rádio. A exposição a radioatividade ocorre pela ingestão de alimentos e o consumo de água, ou pela inalação de partículas dispersas na atmosfera. Na castanha-do-Brasil a concentração de Rádio que pode chegar à quantidade até 1000 vezes maior que outros alimentos, com média é de 0,1- 0,3 %, apesar do elemento não ser retido no organismo (GABAY; SAX, 1969).

A ocorrência de câncer também está dentre os riscos associados à ingestão de alimentos radioativos, sendo que o monitoramento é um meio de proteção à saúde (IRIGARAY et al., 2007; BALONOV, 2008; CELIK et al., 2008), por isso a associação entre o teor de radioatividade da castanha e a influência no metabolismo de fungos contaminantes na produção de aflatoxinas, também constitui um tema importante a ser estudado.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) necessita de dados para subsidiar as ações governamentais brasileiras nas decisões internacionais quanto aos limites de exposição de aflatoxinas, relacionadas à castanha-do-Brasil. No Amazonas, a alta incidência de hepatite em algumas regiões necessita ser estudada quanto à associação da ingestão de alguns alimentos, para subsidiar ações da Fundação de Vigilância Sanitária do Estado do Amazonas (FVS) quanto ao gerenciamento de riscos em alimentos.

Portanto, avaliar a contaminação por aflatoxinas, selênio e a radioatividade em castanha-do-Brasil, é uma forma de obter dados para gerenciar riscos à saúde pública e para proteção econômica do alimento.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H. B.K.)

2.1.1. Distribuição e Características Nutricionais

Pertencente ao grupo das nozes de árvores, a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K) foi descrita pela primeira vez em 1808, quando Humboldt e Bompland, e posteriormente Kunth, denominaram a árvore majestosa presente na Floresta Amazônica (MENNINGER, 1777; NYBG, 2009). O Ministério da Agricultura por meio do Decreto 51209 de 18/09/1961, para efeito de comércio exterior, regulamentou a denominação de castanha-do-Brasil (BRASIL, 1961).

A castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) é conhecida também como castanha-do-Brasil, castanha-do-Pará e Brazil nut ou Para nut. Na 3ª Convenção mundial de Frutos Secos ocorrida em 1992 em Manaus, com a participação de mais de 300 empresários, convencionou-se de chamá-la de castanha-da-Amazônia (EMBRAPA, 2009a).

A classificação botânica é descrita como:

Divisão: *Angiospermae*

Classe: Dicotiledônea

Ordem: *Myrtiflorae*

Família: *Lecythidaceae*

Espécie: *Bertholletia excelsa*.

A família tem 325 tipos de árvores nos trópicos americanos, divide-se em 15 gêneros, em que o *Bertholletia* é dominante com 75 espécies. (BRASIL, 2002).

A castanheira-do-Brasil é uma árvore de grande porte, atingindo até 50 metros de altura e 2 metros de diâmetro na base (Figura 1a). Possui caule cilíndrico, liso, desprovido de ramos até a fronde, casca escura e fendida, ramos encurvados nas extremidades (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

A castanheira apresenta floração nos meses de outubro a dezembro e frutificação de outubro a março. Plantas provenientes de sementes iniciam a fase produtiva em torno de 8 anos e somente aos 12 atingem a produção normal, desde que plantadas a sol pleno. Plantas provenientes de enxertia podem iniciar a produção de frutos aos 3 anos e meio (VILELA, 2009).

A dispersão de suas sementes, crescimento e capacidade de produção de frutos parecem ser afetados por vários fatores, como por exemplo, ação de cipós e animais (PERES et al., 2003; KAINER et al., 2006). A produção de frutos e sementes pode ser considerada baixa na comparação com estudos semelhantes realizados na região amazônica. O número médio de frutos produzidos foi de 23, com uma produção média de 4,07 kg de sementes por árvore. A produção de amêndoas correlacionou-se de forma significativa com o diâmetro do tronco (DAP), a forma e a posição da copa (TONINI et al., 2008a),

Segundo Tonini et al. (2008b) a posição sociológica e a forma da copa têm influência sobre a produção de sementes; árvores nas posições superiores do dossel e com copas bem formadas, de forma circular ou irregulares, são mais produtivas. E as árvores mais produtivas apresentam copas mais compridas e menor relação altura/diâmetro; o grau de Esbeltez pode ser estimado com boa precisão a partir do diâmetro do tronco e a competição apresenta pouco efeito sobre a produção de sementes em árvores adultas; no entanto, há tendência de redução da produção de sementes com o aumento da competição.

A castanheira apresenta várias aplicações: a) “ouriços”(fruto): como combustível ou na confecção de objetos, mas o maior valor é a amêndoa, alimento rico em proteínas, lipídios e vitaminas podendo ser consumida ou usada para extração de óleo; b) do resíduo da extração do óleo obtém-se torta ou farelo usada como misturas em farinhas ou rações; c) “leite” de castanha: de grande valor na culinária regional; c) madeira: com boas propriedades, sendo indicada para reflorestamento e empregada tanto na construção civil como naval (EMBRAPA, 2009a).

O fruto da castanheira (ouriço), constituindo-se uma camada de substância lenhosa (Figura 1b). É uma cápsula (pixídio) globosa deprimida, quase esférica, de 08 a 16 cm de diâmetro, tendo visível na parte superior o resto do cálice. A casca do fruto é espessa, lenhosa, dura, de cor castanha, repleta de células resinosas. Podem pesar de 0,5 a 5 kg e conter de 10 a 25 sementes, angulosas, agudas, mais ou menos triangulares, transversalmente rugosas, estreitamente comprimidas, envoltas em polpa amarela, dispostas em três séries (BRASIL, 2002).

A amêndoa é a parte comestível da castanha com casca ou descascada (Fig. 1c). A castanha é beneficiada e comercializada com casca e sem casca e pode ser classificada em diversos tamanhos segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento (BRASIL, 1998). A amêndoa é composta principalmente por tecidos parenquimáticos delimitados por um anel de tecido meristemático, envoltos por uma camada epidérmica e uma película lignificada. A

parte aérea e a raiz primária são formadas dos tecidos meristemáticos preexistentes localizados, preferencialmente, nas regiões dos pólos caulinar e radicular. A descrição dos tecidos em diversas etapas do processo germinativo indica que a amêndoa da castanheira, no momento da maturação e dispersão da semente, não apresenta tecidos em estágio avançado de diferenciação celular, como os que formam a plúmula, radícula e cotilédones, normalmente observados em sementes. A organização dos tecidos indica que a denominação de embrião hipocotilar parece ser a mais correta para esta espécie, pois, de tecidos meristemáticos preexistentes formam-se o epicótilo e a raiz primária (CAMARGO; CASTRO; GAVILANES, 2000).

O Brasil é o segundo país exportador de castanha-do-Brasil, perdendo somente para a Bolívia. No Brasil, mais de 90% da castanha-do-Brasil produzida é comercializada para fora do país, sendo que os maiores compradores são os Estados Unidos, a Inglaterra, França, Alemanha e Itália. Apesar da importância do comércio externo, a comercialização da castanha dentro do país é uma importante fonte de renda para milhares de agricultores, seringueiros e povos indígenas que vivem na Amazônia (APIZ, 2008).

Figura 1. A Castanheira-do-Brasil: (a) árvore da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) (APIZ, 2008); (b) fruto (ouriço) e sementes; (GIORDANO, 2009); (c) castanha-do-Brasil com casca e sem casca; (PACHECO, 2007).



a)



b)



c)

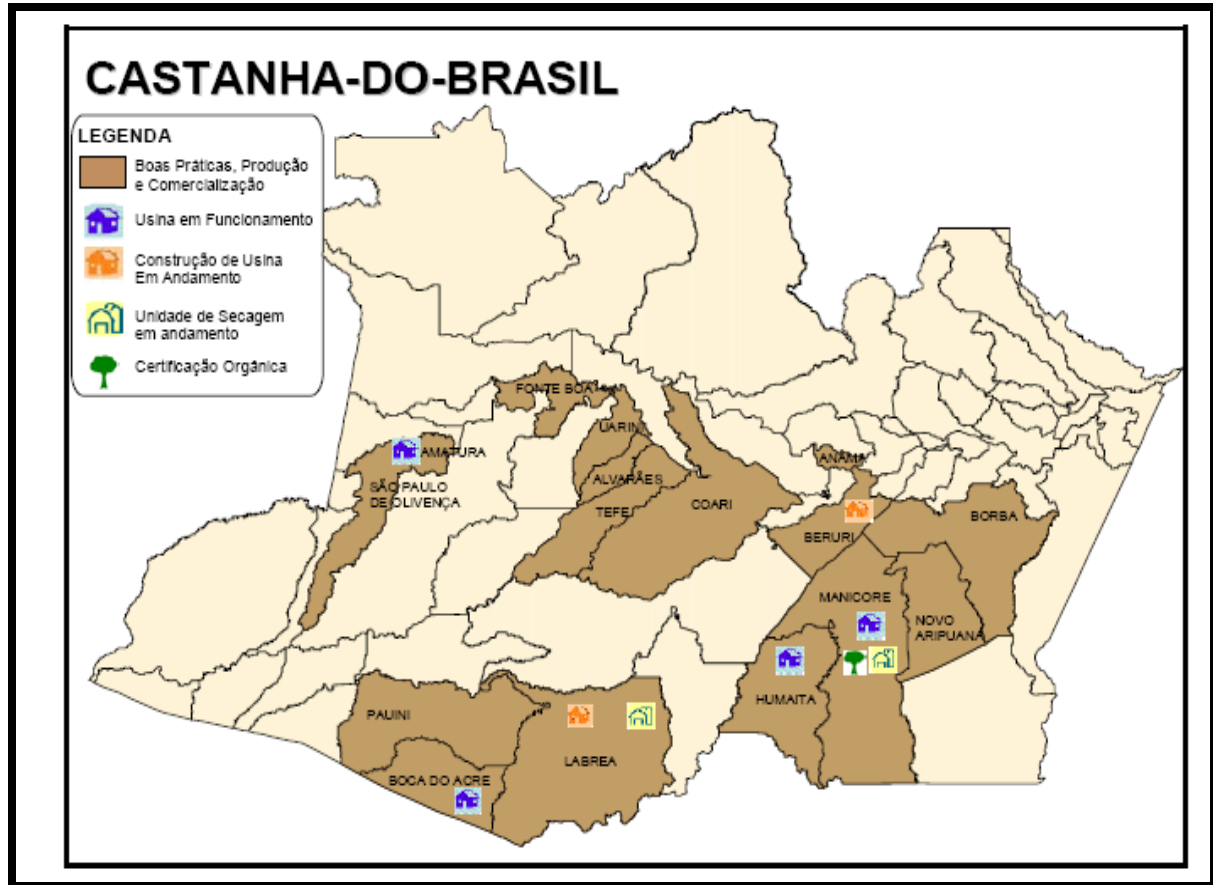
A castanheira é uma planta encontrada em sua maioria, em estado nativo na Amazônia, e localiza-se em maiores concentrações na porção brasileira, como apresentado na figura 2 (PACHECO; SCUSSEL (2007).

Figura 2. Distribuição da Castanheira-do-Brasil entre as regiões (Oeste e Leste) da Bacia Amazônica (PACHECO; SCUSSEL, 2007)



No Estado do Amazonas, a castanheira é distribuída uniformemente em todo o território, porém, sua ocorrência é mais frequente ao longo das calhas dos rios Madeira, Purus e Solimões. (PACHECO; SCUSSEL, 2007).

Figura 3. Municípios do Estado do Amazonas e atividades relativas à castanha-do-Brasil. (AMAZONAS, 2005)



Devido ao elevado teor protéico, calórico e lipídico, a castanha-do-Brasil está incorporada na alimentação culinária da Região Norte Brasileira, e tem alcançado novos grupos de consumidores. Dentre esses, se destacam os que buscam uma dieta rica em antioxidantes, que na castanha-do-Brasil, com teor de Selênio (Se) superior às de outras nozes de árvores, atrai apreciadores da dieta naturalista, esportistas e idosos. Por outro lado, além das vantagens, devido à preocupação com a saúde do consumidor e às restrições comerciais impostas por outros países, houve necessidade de instituir mecanismos que garantissem a segurança na cadeia produtiva. THOMSON et al. (2008) sugeriram que o consumo de 2 castanhas (média de 100 mg/dia) é o suficiente para obter os efeitos antioxidantes no organismo humano.

A amêndoa possui elevado teor de proteínas de alto valor biológico, lipídios, fibras (PACHECO; SCUSSEL, 2006; SOUZA, 2003), vitamina E e, em ordem decrescente, minerais

como fósforo, potássio, magnésio, cálcio e selênio (CHUNHIENG et al., 2004; SOUZA; MENEZES, 2004). Este último é um oligo elemento presente em maior quantidade na castanha-do-Brasil dentre todos os alimentos conhecidos (PACHECO; SCUSSEL, 2007).

Além de apresentar importantes qualidades nutricionais, é um alimento grandemente apreciado pelo seu sabor. É constituída por 60 a 70 % de lipídios, expressivamente de ácidos graxos poliinsaturados, e de 15 a 20 % de proteína de boa qualidade biológica (CARDARELLI e OLIVEIRA, 2000).

Segundo Souza, Menezes (2004), a amêndoa de castanha-do-Brasil apresenta a seguinte composição química centesimal: umidade 3,13%; proteína bruta 14,26%; lipídios 67,3%; carboidratos 3,42%; valor energético 676,56 kcal (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química centesimal, teor de selênio e valor calórico da amêndoa e torta de amêndoa de castanha-do-Brasil (SOUZA e MENEZES, 2004).

Componente	Castanha-do-Brasil	
	Amêndoa	Torta
Umidade (%)	3,13	6,7
Cinzas (%)	3,84	8,85
Lipídios (%)	67,3	25,13
Proteínas (%)	14,26	40,23
Carboidratos (%)	3,42	3,37
Fibra total (%)	8,02	15,72
Fibra insolúvel (%)	4,89	12,67
Fibra solúvel (%)	3,12	3,04
Valor calórico (kcal)	676,56	400,6
Selênio (mg/kg)	2,04	7,13

A proteína da amêndoa e torta de amêndoa de castanha-do-Brasil é rica em todos os aminoácidos essenciais, com elevado teor dos sulfurados (metionina e cisteína), geralmente insuficientes em proteínas vegetais. Sugere-se sua mistura com outras matérias-primas com o objetivo de enriquecê-las em qualidade e quantidade protéicas. Na torta de amêndoa, os aminoácidos essenciais estão em valores acima do padrão teórico da FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO-1985), com exceção de treonina, isoleucina, lisina e triptofano, entretanto o escore químico inferior ao estabelecido pelo padrão da FAO foi apenas em relação ao aminoácido lisina (SOUZA; MENEZES, 2004).

O alto teor de lipídio da amêndoa (67,30%) e da torta (25,13%) de castanha-do-Brasil é um constituinte importante do ponto de vista nutricional, de modo que grande parte da fração graxa da amêndoa de castanha-do-Brasil é o ácido graxo linoléico (35,48%), reconhecido universalmente como ácido graxo essencial, de grande relevância para a alimentação humana (RODRIGUES et al., 2005).

A castanha-do-Brasil apresenta um elevado valor calórico (cerca de 500,60 kcal/100g para a torta e 676,56 kcal/100g para a amêndoa). O maior valor correspondente a amêndoa é devido ao alto percentual de lipídio que contribuiu para elevar o seu valor energético, enquanto que a torta, devido à extração de lipídios, o valor calórico ficou reduzido (SOUZA; MENEZES, 2004; PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Estudos sugerem que pode haver relação entre a frequência de consumo de nozes com redução da incidência de doenças do coração, constituindo uma fonte alimentar, benéfica à saúde apesar de as nozes serem reconhecidamente ricas em teor de lipídico (KOCYIGIT et al., 2006).

Na castanha-do-Brasil, o teor atinge 60-70%, bem como o teor de ácidos graxos saturados e insaturados, com nível de 73% (ácido oléico e linoléico) superior a outras nozes (RYAN et al., 2006).

Tabela 2. Composição em ácidos graxos (%) do óleo extraído da castanha-do-Brasil (PACHECO, 2007).

Ácidos Graxos ^a	Andrade et al.(1999)	Ryan et al. (2006)	Venkatachalam; Sathe (2006)
Mirístico (14:0)	ND ^b	0,06	0,05
Palmítico (16:0)	ND	13,50	0,00
Palmitoléico(16:1)	ND	0,33	15,1
Margárico(17:0)	15,0	0,22	0,08
Esteárico (18:0)	10	11,77	9,51
Oléico (18:1)	28,0	29,09	28,75
Linoléico (18:2)	6,9	42,80	45,43
Linolênico (18:3)	21,7	0,20	0,18
Araquídico (20:0)	24,9	0,54	0,25
Gadoléico (20:1)	ND	0,21	0,00
Behênico (22:0)	-	0,12	0,06
Erúcido (22:1)	-	0,34	0,00

^aNúmero de átomos de carbono; número de insaturações ^bNão detectado

O teor de açúcares nos alimentos pode ser determinante na presença de fungos deterioradores por favorecer o metabolismo dos microrganismos e, conseqüentemente, por danos causados nos produtos, portanto alguns estudos têm sido feitos no que diz respeito às diversas formas de carboidratos em alimentos, como por exemplo, celulose e lignina (PACHECO, 2007).

A composição de carboidratos apresenta variação de 0.69 g % (VENKATACHALAM; SATHE, 2006) a 10.3 g % em matéria seca (ANDRADE et al., 1999). Já o teor de fibra foi determinado por Souza e Menezes (2004) em 8,02 g %, em que 3,12 g % de fibra solúvel, e 4.89 g % de fibra insolúvel.

Há ampla diferença entre o teor de alguns minerais em castanha-do-Brasil, entretanto, não foram detectados valores relevantes de metais pesados, como Arsênio (As), Chumbo (Pb) e Mercúrio (Hg) (FURR et al., 1979). A presença de valores elevados de Ferro (Fe), Magnésio (Mg) e Manganês (Mn) também podem ser interessantes do ponto de vista nutricional, no enriquecimento de dietas (CHUNHIENG et al., 2004).

Alguns dos trabalhos de minerais em castanha-do-Brasil estão na Tabela 3.

Tabela 3. Teor de minerais da castanha-do-Brasil (PACHECO, 2007).

Componente ^a	Furr et al. (1979) ^b	Andrade et al. (1999)	Gonçalves et al. (2002) ^c	Chunhieng et al. (2004)	Moodley et al. (2007) ^b
Arsênio	0,02	-	-	-	0,013
Cálcio	1592	132	206,75	6060	7432,8
Chumbo	0,4	-	-	-	-
Cromo	0,6	-	-	-	1,34
Cobre	1,9	1,3	1,17		59,44
Ferro	93	3,4	9,67	80	74,26
Fósforo	1,7	674	564,50	23800	-
Magnésio	3370	160	312,50	13380	9678,5
Manganês	8	0,6	6,85	50	3,4
Mercúrio	0,01	-	-	-	-
Potássio	5405	644	514,75	19690	-
Sódio	7,2	2,0	-	20	-
Zinco	41	3,5	7,1	115	110,31

^a mg%, ^b embalagens do varejo, ^c origem: árvores próximas de Manaus (AM) Brasil

A castanha-do-Brasil tem pesquisa focada na presença de selênio, devido à ação antioxidante nos processos metabólicos (PACHECO; SCUSSEL, 2006). A atuação do selênio

está relacionada com a enzima glutationa-peroxidase, dependente do Se, no que se refere à formação de radicais livres no organismo (HOLBEN; SMITH, 1999), proteção contra a ação nociva de metais pesados, prevenção de doenças crônicas não transmissíveis e aumento da resistência do sistema imunológico (COZZOLINO, 2001; GONZAGA, 2002).

A quantidade de selênio encontrada na torta de castanha-do-Brasil (7,13mg/kg) foi 3,5 vezes maior que o teor da amêndoa (2,04 mg/kg). Isto pode ser explicado pela grande quantidade de amêndoas com película utilizada para obtenção da torta e ao seu menor percentual de lipídio, sugerindo-se que a película da amêndoa poderá possivelmente, conter elevada concentração de selênio (SOUZA; MENEZES, 2004).

Em estudo realizado por CHUNHIENG et al., (2004), as amêndoas de castanha-do-Brasil apresentaram um elevado conteúdo de selênio, em média 126 mg/kg, sendo evidenciado ainda que o selênio permanecia naturalmente distribuído nas frações protéicas da amêndoa.

Por outro lado SOUZA (2003) e SOUZA e MENEZES (2004) destacam que além do selênio, outro apelo muito forte para a utilização da castanha do Brasil é a quantidade e a qualidade da proteína contida na amêndoa e o baixo emprego no mercado interno pelas indústrias processadoras de alimentos.

Em relação ao teor vitamínico, destacam-se as vitaminas do grupo B, principalmente, B₁ e B₃, pró-vitamina A e vitamina E (SILVA E MARSAIOLI, 2003). Há também uma combinação de Vitamina E, e, selênio, constituindo-se como a melhor fonte alimentar antioxidante, além de evitar a propagação do câncer (BRASIL, 2002).

Alguns dos trabalhos de selênio em castanha-do-Brasil estão na tabela 4.

Tabela 4 - Teor de Selênio em Castanha-do-Brasil.

Amostras			Método	Teor Médio de Se mg/kg (Min-Máx)						Autores
Origem	Local de Coleta	Nº de Amostras		Com Casca	Mín.	Máx.	Sem Casca	Mín.	Máx.	
-	Itália	-	CLAE-UV-HG-AFS	-	-	-	82.9	-	-	Bodó et al. (2003)
Brasil	Acre		HG AAS-ICP	49.9			5.1			Souza; Menezes (2004)
Brasil	-	-	CLAE-MS	-	-	-	126.0	-	-	Chunhieng et al. (2004)
Bolívia	Bélgica ^e		ICP-MS	49.9	-	-	-	-	-	Dumont et al. (2006)
-	África do Sul	-	ICP-OES	36.1	-	-	-	-	-	Moodley et al. (2007)
Brasil	Brasil	80	ICP-OES	20.5	11.1	34.7	43.7	23.7	61.0	Pacheco e Scussel (2007)
	-Itacoatiara			29.2	12.9	38.6	43.9	20.7	69.7	
	-Autazes			13.5	9.7	18.5	25.3	13.8	35.1	
	-Boca do Acre -Amaturá			11.9	9.2	16.7	21.8	8.5	29.1	
	Suécia	-	ICP-SFMS	33.0	-	-	-	-	-	Rodushkin et al.(2008)
Brasil Bolívia Peru Norte da América do Sul	Estados Unidos	-	INAA	-	-	-	3.6 1.6 6.5 20.2	-	-	Parekh et al. (2008)
		-		36.1						Yang (2009)

2.1.2 Cadeia Produtiva da castanha-do-Brasil

Nas etapas de comercialização e manuseio da matéria-prima (beneficiamento), grande contingente de mão-de-obra é empregado em decorrência dos métodos manuais de processamento e transporte, e as condições higiênicas são precárias tanto para os utensílios usados, como para a manipulação por parte do pessoal envolvido (PACHECO, 2003).

A coleta dos “ouriços” dá-se entre os meses de janeiro a maio, quando caem ao solo, na estação chuvosa. Nesta etapa, de cata dos ouriços (frutos), o extrator os coloca em um cesto que leva às costas. Quando o cesto está carregado, são transportados aos barracões (de palha ou cobertos com lonas), denominadas de “região de quebramento” ou “comunidades”, destinadas à operação de extração das sementes. A segunda parte consiste na quebra manual dos ouriços, para a retirada das castanhas. Uma vez extraídas, são lavadas para eliminar impurezas, classificadas e armazenadas a granel, para transporte até o beneficiamento (BRASIL, 2002).

O produto é armazenado em barracões e levado aos portos primários de comercialização e daí, até a sede do município, sendo o transporte feito por embarcações de pequeno porte, em face da difícil navegabilidade dos rios. Nesta etapa, as maiores dificuldades de transposição surgem em trechos de cachoeiras dos rios, sendo possível somente na estação chuvosa, quando o nível das águas o permite, apesar de que em algumas localidades, o transporte ocorre via terrestre, como no Estado do Acre. Dos portos de convergências secundários, a castanha é transportada a granel em embarcações, tais como “alvarengas”, uma embarcação fechada ou barcos de passeio e ensacada em balsas até a usina, onde será desembarcada, para o beneficiamento (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Após as etapas de pré e pós-colheita a castanha é beneficiada em usinas com equipamento para produção em larga escala, sendo obtida com e sem casca. A sequência de procedimentos é variável de acordo com a usina, porém está apresentado na figura 4 um fluxograma do beneficiamento.

Após o beneficiamento, o produto *com casca* é acondicionado em *big bags*, normalmente de 1000 kg, sacos de juta ou polietileno, e o produto *sem casca* em embalagem aluminizada a vácuo ou sacos revestidos com caixas de papelão (PACHECO, 2003). Na tabela 5, o esquema da cadeia produtiva sugerida por Brasil (2002).

Tabela 5 - Etapas da cadeia produtiva da castanha-do-Brasil (BRASIL, 2002).

Etapa	Fase
Etapa 1: Desde a caída natural dos ouriços até a venda ao intermediário ou à cooperativa, compondo-se de cinco principais fases:	<ol style="list-style-type: none"> 1) Preparo do castanhal 2) Colheita <ol style="list-style-type: none"> a) Coleta b) Amontoa 3) Pré-beneficiamento <ol style="list-style-type: none"> a) Corte b) Lavagem 4) Primeiro transporte <ol style="list-style-type: none"> a) Terrestre b) Fluvial 5) Primeiro armazenamento
Etapa 2: Inicia com o segundo transporte, feito pelo intermediário que compra as castanhas do extrativista. Composta de duas fases:	<ol style="list-style-type: none"> 1) Segundo transporte <ol style="list-style-type: none"> a) Fluvial b) terrestre 2) Segundo armazenamento
Etapa 3: O beneficiamento com casca inicia com a chegada para o beneficiamento, composta das seguintes fases:	<ol style="list-style-type: none"> 1) Recepção 2) Terceiro armazenamento 3) Beneficiamento <ol style="list-style-type: none"> a) Lavagem/peneiramento b) Secagem c) Resfriamento d) Primeira seleção (manual) e) Ensaque das castanhas com casca
Etapa 4: O beneficiamento sem casca é a etapa mais longa, composta pela maior número de fases:	<ol style="list-style-type: none"> 1) Autoclavagem 2) Segundo resfriamento 3) Descascamento 4) Segunda seleção por tamanho (mecânica ou manual) 5) Desidratação 6) Terceiro resfriamento 7) Terceira seleção 8) Embalagem
Etapa 5: Industrialização da amêndoa: é realizada com castanhas sem casca, sendo considerada a última etapa da cadeia produtiva, tendo em vista que o processo de industrialização para a obtenção de subprodutos e derivados (óleo, torta/farelo, farinha, leite, biscoito, doces, etc) As principais fases são:	<ol style="list-style-type: none"> 1) A recepção 2) A seleção 3) O armazenamento
Etapa 6: Comercialização: Esta etapa é considerada importante do ponto de vista da valorização do produto e acompanhado o mercado a que se destina verificam-se dois segmentos: o mercado externo e o interno.	

2.1.3 Beneficiamento

Para a preservação da qualidade da castanha devem ser observadas certas recomendações durante as etapas de beneficiamento, tais como (Figura 4):

a) Recepção: retirada de amostra para avaliação da qualidade das castanhas (amostra será avaliada quanto às: castanhas mofadas, manchadas, deterioradas e vazias por meio de uma inspeção visual). Esta atividade é denominada de corte (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

b) Armazenamento na usina: as castanhas com casca são armazenadas em galpões com boa ventilação. Embaladas em sacos de polipropileno ou aniagem são mantidas sobre estrados limpos evitando o contato com o piso e umidade. Os lotes a granel são mantidos em baias ou silos igualmente impermeáveis e de fácil limpeza e sanitização (CAMPO/PAS, 2004).

c) Lavagem: objetiva a retirada de excesso de matéria orgânica, identificando e descartando as castanhas chocas, promovendo choque térmico antes da quebra (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

d) Tratamento térmico: dois métodos são utilizados. Ou a castanha lavada é tratada por imersão em água em ebulição, durante 1 a 2 minutos ou é autoclavada por um período de 2 a 5 segundos imediatamente após a lavagem. Esse processo além de reduzir a carga microbiológica da matéria prima, facilita a retirada da casca (CAMPO/PAS, 2004).

e) Descasque: as castanhas ainda quentes são descascadas manualmente com o auxílio de um pequeno aparelho de ferro, que as comprime pelas extremidades, quebrando a casca e deixando a amêndoa livre (CAMPO/PAS, 2004).

f) Seleção: feita manualmente para identificar castanhas deterioradas ou danificadas e/ou tamanhos diferentes (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

g) Classificação: as castanhas são classificadas ou separadas por classificadores vibratórios ou manualmente conforme as especificações para padronização, comercialização e classificação definidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que determina seis classes (extragrande, grande, semigrande, extramédia, média e pequena) para castanha em casca e oito classes (grande, extramédia, média, pequena, miúda, miudinha, ferida e quebrada) para amêndoa descascada (BRASIL, 1976; BRASIL, 2002).

h) Desidratação: as castanhas sem casca são levadas à estufa com circulação forçada de ar, com temperatura de 60°C por 24 horas ou até atingirem entre 11 a 15% de umidade. Já as castanhas com casca, podem ser secas em secadores rotativos ou em estufas obedecendo-se ao mesmo teor de umidade (CAMPO/PAS, 2004).

i) Polimento: após classificadas, as castanhas com casca são polidas mecanicamente em polidores com superfície interna áspera para melhoria da aparência da casca através da

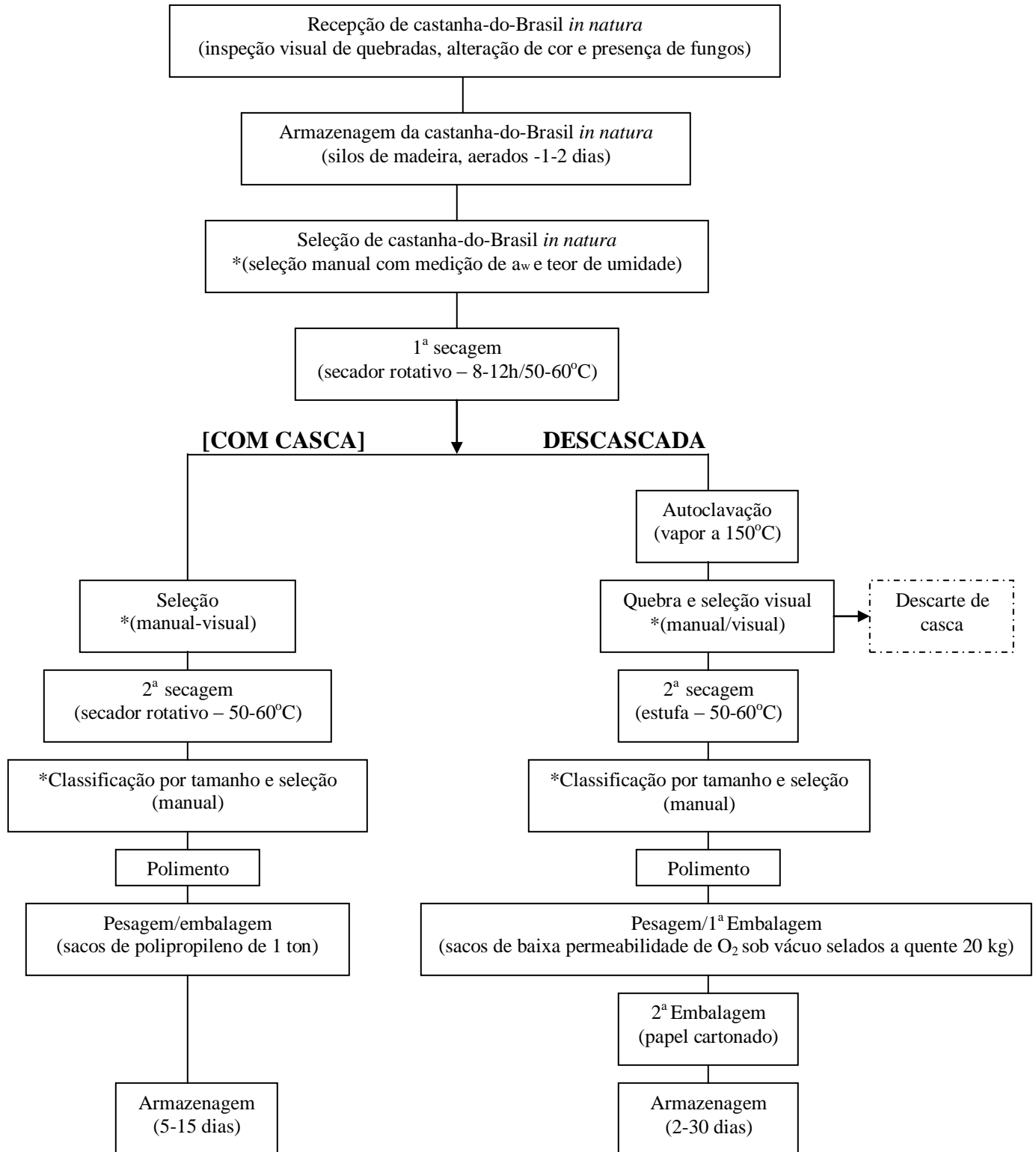
eliminação das arestas. As amêndoas são polidas através de rolos de escova ou espuma para a retirada de resíduos de película (CAMPO/PAS, 2004).

j) Pesagem e embalagem: as amêndoas são pesadas e embaladas a vácuo por processo semi-automático em sacos aluminizados, e/ou organizados em caixas de papelão. As castanhas com casca são embaladas em sacos de propileno de 60 kg ou em grandes sacos de ráfia (*big bags*) de 500 a 1000 kg (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

k) Armazenamento do produto final: os sacos e caixas com castanhas ou amêndoas desidratadas são empilhados sobre estrados de madeira que deve obedecer as Boas Práticas de Fabricação, em depósito arejado, limpo e com iluminação natural (CAMPO/PAS, 2004).

l) Etapa de expedição: tornou-se foco da atenção das usinas exportadoras brasileiras, principalmente quanto ao controle de temperatura, umidade e tempo de transporte até o mercado de destino, sem afetar negativamente a qualidade do produto (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Figura 4 - Fluxograma de beneficiamento da castanha-do-Brasil [*] etapas de seleção (PACHECO, 2007).



2.1.4 Tecnologias aplicadas à cadeia produtiva

A castanha-do-Brasil tem alto potencial econômico, e representa um dos elementos principais para a economia das famílias extrativistas da Amazônia Brasileira. Seu uso, embora comum na culinária Amazônica, ainda está em crescimento nas demais regiões do País, uma vez que o consumo doméstico da castanha é muito reduzido, e a maior parte da produção é exportada para a Europa e América do Norte, sendo apreciada como “delicatessen” (FELBERG et. al, 2004).

A castanha-do-Brasil apresenta importante potencial nutritivo, baixa utilização no Brasil como ingrediente na elaboração de alimentos e/ou consumo in natura, baixa agregação de valor (a maior parte da produção, cerca de 90%, é exportada desidratada com casca para outros países, onde gera emprego, renda e agrega valor, devido ao amplo uso como ingrediente de vários produtos industrializados) (SOUZA; MENEZES, 2008a).

Especificamente, o óleo tem sido utilizado na fabricação de cosméticos, fitoterápicos, e as cascas, na produção de biocombustível, fabricação de tapetes, peças de artesanato e composição de tintas (BRASIL, 2002). A amêndoa fresca, depois de ralada, produz leite grosso e branco. O leite de castanha, similar ao de côco, é considerado um subproduto de grande valor na culinária regional, com bom potencial de mercado em alguns estados, inclusive para complementação da merenda escolar (BRASIL, 2002).

O processo tecnológico de obtenção do leite de castanha-do-Brasil leva a um derivado com elevado teor de proteína (21,19%) e baixo teor de lipídios (5%) consistindo em uma alternativa viável para a complementação energético-protéica de dietas. Em estudo realizado por Cardarelli e Oliveira (2000) sobre a conservação do leite de castanha-do-Brasil, verificou-se que o emprego de pasteurização e refrigeração permitiu que o produto se mantivesse estável microbiologicamente por, pelo menos, 30 dias, podendo ser classificado como semi-perecível e que o efeito aditivo de pasteurização, refrigeração e adição de conservantes garantiu a estabilidade do produto durante os 180 dias de armazenamento.

O óleo da castanha-do-Brasil obtido pela prensagem das sementes, ou com uso de solvente, tem sido utilizado no enriquecimento de alimentos industrializados (SOLIS, 2001). Além da aplicação na fórmula de cosméticos, o óleo também pode ser utilizado em adição a meios específicos, como fonte de carbono para microrganismos, propiciando a produção de

substâncias biosurfactantes, que devido à importância ecológica, são mais aceitos que os surfactantes sintéticos (COSTA et al., 2006).

Além da utilização da castanha-do-Brasil como aperitivo, ela tem alcançado outros grupos de consumidores, tais como: crianças, esportistas e pessoas da terceira idade. A produção de castanhas cobertas com camadas doces (drageados), de chocolate ou iogurte e também como salgado, apenas com sal e condimentos do tipo ervas e pimenta, tem sido bastante difundida e aceita pelos consumidores brasileiros e também de outros países (EMBRAPA, 1998).

A castanha-do-Brasil tem sido utilizada como ingrediente em alimentos extrusados de forma a enriquecer o teor protéico de alimentos processados (SOUZA e MENEZES (2004); SOUZA e MENEZES (2008a)). Souza e Menezes (2008b) estudaram a aceitabilidade dos consumidores, visando aperfeiçoar as condições de processamento por extrusão termoplástica de misturas de castanha do Brasil com farinha de mandioca.

A tecnologia de extrusão é uma alternativa viável para processar misturas de castanha do Brasil desengordurada de forma a obter alimento prático e pronto para consumo, disponibilizando ao mercado um produto alimentício alternativo rico em proteína vegetal, carboidratos, lipídios, fibras e selênio, contribuindo para a diversificação de produtos alimentícios desse grupo, similares aos cereais matinais existentes no mercado (SOUZA e MENEZES, 2008a).

Felberg et al., (2004) elaboraram bebidas à base de extrato de soja integral e castanha-do-Brasil de forma a aumentar o aproveitamento da castanha-do-Brasil, matéria prima nacional pouco aproveitada industrialmente no mercado interno.

2.1.5 Qualidade da castanha-do-Brasil

Dentre os principais problemas identificados na produção da castanha-do-Brasil está a elevada contaminação por bactérias do grupo coliforme, devido à sua prolongada exposição a fatores ambientais e às condições de manipulação na indústria, além da contaminação por fungos produtores de toxinas, no caso a aflatoxina. Esses problemas têm se constituído em forte entrave para a comercialização do produto, principalmente no mercado externo, dado ao rigoroso controle de países europeus e Estados Unidos em relação aos níveis de toxinas presentes nos alimentos (EMBRAPA, 2009b).

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) vem desenvolvendo ações de apoio ao setor produtivo para implementação do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos

de Controle (APPCC), criado para identificação e controle dos pontos mais vulneráveis à contaminação dos alimentos. Envolve toda a cadeia produtiva (do campo à mesa do consumidor). O sistema é obrigatório na Comunidade Européia e nos Estados Unidos e recomendado pela Organização Mundial do Comércio (OMC). É considerado pré-requisito entre os países signatários da Organização para comercialização de produtos alimentícios e Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). É aprovado pelo *Codex Alimentarius*. No campo, especificamente, trata da normatização das práticas agrícolas, visando à certificação do produto final. Reconhece as ações mais fomentadas e implantadas por produtores e implementa o sistema de boas práticas na agricultura, diminuindo impactos ambientais adversos (EMBRAPA, 2009b).

No Brasil existe o Projeto de monitoramento e controle de micotoxinas na castanha-do-Brasil (BRASIL, 2002) e o Plano Nacional de Segurança e Qualidade dos Produtos de Origem Vegetal - PNSQV (BRASIL, 2003), com objetivo de controlar os níveis de contaminantes e resíduos químicos e biológicos, conforme os limites estabelecidos na legislação, evitando perdas e agregar valor aos produtos de origem vegetal.

No Amazonas, em 2002, foi estabelecido o Projeto de “Controle da contaminação por aflatoxinas na Cadeia Produtiva da castanha-do-Brasil PNO PG/CNPq”, bem como, a partir de 2003, a Agência de Florestas e Negócios Sustentáveis do Amazonas (AFLORAM) iniciou a execução do Projeto de Boas Práticas na Coleta e Armazenamento da Castanha (AMAZONAS, 2005).

No Amapá, em 1980, foi realizado um estudo de oportunidade de investimento quanto ao perfil de industrialização da castanha-do-Brasil e formulado o Projeto Castanha-do-Brasil (PACHECO, 2007).

No Acre, a EMBRAPA em 2001 definiu o projeto “Demandas tecnológicas para o processamento de castanha (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bompl.) no Estado do Acre”, bem como parceria com o Programa Alimentos Seguros (CAMPO/PAS) na elaboração de um material didático para a segurança na cultura da castanha-do-Brasil. No Pará, foi aplicado o Projeto de Manejo dos territórios quilombolas com a exploração da castanha-do-Pará em Oriximiná (PA). Em Rondônia, os trabalhos pela cultura da castanha se referem principalmente a pesquisas com o melhoramento genético, germinação para a obtenção de variedades mais precoces e técnicas mais aprimoradas de manejo e cultivo (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Apesar de o MAPA ter estabelecido regulamentos técnicos (BRASIL, 2003) e instruções normativas (BRASIL, 2004), para certificação do extrativismo e beneficiamento, referentes às medidas básicas de higiene e manejo na cadeia produtiva, muitos estudos ainda precisam ser aplicados. A monitoração da execução das normas tanto por castanheiros quanto por usineiros deve ser uma realidade aplicada no dia a dia. Sem dúvida que já são observadas melhoras significativas, tanto no aspecto estrutural de algumas comunidades e usinas, como na preocupação pela prevenção de fungos e conscientização de pessoal na aplicação de medidas controle de pontos críticos (CPC), como na recepção e a secagem da castanha (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Quanto à questão analítica, a necessidade de laboratórios que avaliassem a qualidade da castanha-do-Brasil iniciou com a questão nutricional, nos primeiros trabalhos que estudaram o alto valor biológico da proteína da castanha. Já os estudos da contaminação por AFLs eram as análises laboratoriais de amostras de lotes das usinas exportadoras, realizadas em laboratórios particulares que emitiam resultados documentais, por exigência de países importadores (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Contudo, com os problemas dos lotes brasileiros exportados para a Europa resultando nas diretivas da Comunidade Européia em 1998, surgiu a necessidade de harmonização de protocolos analíticos e qualificação de laboratórios. Principalmente na região Norte onde estão localizadas as usinas de beneficiamento e comunidades extrativistas, para obter um controle de qualidade efetivo quanto à análise de aflatoxinas, inclusive para atender a legislação quanto à obtenção de resultados tecnicamente válidos em nível internacional (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

2.1.6 O mercado da castanha-do-Brasil

A demanda global da castanha-do-Brasil é muito variável em função da forte competição comercial com outras nozes e outros países exportadores além do Brasil (SIMÕES, 2004). Grande parte da produção é exportada e este fato é atribuído à estabilidade do mercado externo, ao qual, principalmente se direciona a produção, onde cerca de 90% das aquisições da castanha-do-Brasil, são negociadas antecipadamente, as indústrias adiantam o valor das compras, cuja entrega do produto ocorre posteriormente em prazos que vão de 30 a 60 dias (CONAB, 2009).

O Brasil, até 1990, ocupou posição de liderança no mercado mundial, com 80% do comércio internacional. Atualmente, com a redução da produção brasileira para cerca de 30.000

toneladas, a Bolívia passou a ser o maior exportador mundial, com volume da ordem de 50.000 toneladas anuais. Esta produção é proveniente de sete Estados, o principal é o Acre (11.521 toneladas), seguido pelo Amazonas (9.111 toneladas) e Pará (6.203 toneladas).

Tem-se observado que as exportações brasileiras diminuíram gradativamente de 51.195 toneladas (1990) e 19.301 (1995/1996) (EU, 2003). Uma das causas, além da diminuição da oferta do produto e destruição dos castanhais nativos (PERES et al., 2003) foi o surgimento de barreiras não-tarifárias, pela imposição de padrões fitossanitários mais rígidos por parte dos países exportadores, como os da União Européia (EU, 2003). Dessa forma, as empresas de beneficiamento, procuraram aprimorar os padrões de qualidade e passaram inclusive, a buscar novos mercados, já que a tecnologia de processamento da castanha é variada e utiliza, em sua maioria, grande contingente de mão-de-obra (BRASIL, 2002).

Uma das explicações para a crise atual, provocada pela queda nas exportações da castanha-do-Brasil, foi o ingresso da Bolívia no mercado internacional a partir de 1996, que segundo Portela (2002) ocorreu devido à alta incidência de aflatoxina registrada nas castanhas desse país e que levou o mesmo a importar castanha do Acre para exportar para outros países.

Dentre os fatores que determinaram a perda da posição desta liderança estão: a redução dos castanhais produtivos; a deficiências na cadeia produtiva, em especial nas logísticas de transporte e de armazenamento; a ausência de políticas e de programas de incentivo à produção, de apoio direto à comercialização e de sustentação de renda ao extrativista; a dificuldades de atendimento às exigências fitossanitárias para exportação, especialmente quanto aos limites de tolerância para presença de aflatoxina (CHAVES, 2007).

2.2 Radioatividade

2.2.1 Radioatividade em alimentos

Medidas da radioatividade em ambiente e em gêneros alimentícios são extremamente importantes para controlar o nível de radiação a que a humanidade está direta ou indiretamente exposta. Além dos radionuclídeos naturais, vários elementos radioativos artificiais foram introduzidos na biosfera, devido a vários testes de armas nucleares e numerosos acidentes com reatores nucleares. Outro fato importante é que a importação de alimentos contaminados de

qualquer região que sofreu um acidente nuclear pode afetar indiretamente a saúde de pessoas ao redor do mundo (MELQUIADES, 2002).

No Brasil, diversos estudos sobre radioatividade natural em alimentos foram realizados (AMARAL, 1992; LAURIA et al., 2001; SANTOS, 2002). Porém, estes representam estudos específicos de áreas de radioatividade natural elevada, visando principalmente, estimar a dose efetiva anual e/ou diária, em grupos críticos. Existem apenas alguns levantamentos da concentração de radionuclídeos da série do ^{238}U em mandioca (MALANCA et al., 2000) e de ^{40}K em alimentos (VENTURINE; SORDI 1999) cultivados em áreas de radioatividade natural normal.

A maior parte dos dados disponíveis na literatura, de concentração de atividade por unidade de massa e de ingestão de radionuclídeos naturais em alimentos de origem vegetal e seus derivados, são procedentes de países como: Polônia, Romênia, Índia, China, Japão, Estados Unidos e Reino Unido.

Pietrzak-Flis et al., (2001) determinaram as concentrações em atividade para ^{238}U , ^{232}Th , ^{226}Ra , ^{210}Pb e ^{210}Po em alimentos constituintes da dieta de populações de diferentes regiões observadas. Em determinada região, as maiores concentrações de ^{226}Ra , (137 ± 2) mBq kg^{-1} , foram encontradas na salsa e de ^{238}U e ^{232}Th em espinafre, ($13,6\pm 0,2$) e ($6,7\pm 0,6$) mBq kg^{-1} , respectivamente; em outras regiões, as mais elevadas concentrações, tanto de ^{226}Ra quanto de ^{210}Pb , foram encontradas nas farinhas de trigo, ($80,4\pm 8,6$) e (112 ± 38) mBq kg^{-1} , respectivamente. Em relação aos vegetais, os autores observaram que a contribuição dos alimentos na ingestão dos radionuclídeos analisados também difere entre regiões.

Toader (1993) avaliou os níveis de ^{226}Ra entre 1986 e 1992 em alguns produtos alimentícios da região de Bucarest. As maiores concentrações de atividade foram encontradas na cenoura (212 mBq kg^{-1}), seguidas das farinhas branca ($72,2 \text{ mBq kg}^{-1}$) e preta (119 mBq kg^{-1}). Alguns trabalhos foram conduzidos no Japão devido ao aumento da importação de alimentos; as maiores concentrações de atividade de ^{232}Th e ^{238}U foram encontradas para o grupo constituído de frutas, vegetais e batatas, com concentração média de atividade de $2,3 \text{ mBq kg}^{-1}$ de ^{232}Th e de 26 mBq kg^{-1} de ^{238}U (SHIRAISHI et al., 1992).

Amaral et al., (2005) realizaram estudos da concentração de urânio e ^{226}Ra em alimentos consumidos na região fosfática de Pernambuco. Esses alimentos foram divididos em grupos de grãos, frutas, tubérculos e raízes. Para os grãos, a concentração de atividade de urânio variou de

17 a 81 mBq kg⁻¹ e ²²⁶Ra de 130 a 748 mBq kg⁻¹, as frutas variaram de 36 a 81 mBq kg⁻¹ para o urânio e 76 a 157 mBq kg⁻¹ para o ²²⁶Ra. Os tubérculos e as raízes tiveram uma concentração de urânio que variou de 29 a 51 mBq kg⁻¹ e de 367 a 672 mBq kg⁻¹ para o ²²⁶Ra, respectivamente.

2.2.2 Radioatividade em castanha-do-Brasil

Além do elevado teor de proteína, lipídico e da presença de antioxidantes, a castanha-do-Brasil possui também componentes que podem conferir outras propriedades, como a presença de elementos químicos radioativos (PACHECO, 2007).

Em relação ao teor de radioatividade, pode haver acúmulo no corpo humano pela ingestão de alimentos e o consumo de água, ou pela inalação de partículas dispersas na atmosfera. Assim sendo, a exposição de grupos populacionais à radioatividade da castanha-do-Brasil requer ênfase de pesquisa, já que é um alimento com larga concentração de Bário e Rádio (TURNER *et al.*, 1958; SMITH, 1971). Apesar dos elementos citados possuírem comportamento químico similar, a diferença entre ambos, é que o Rádio é radioativo.

BULL *et al.* (2006) também confirmaram a excreção de elemento radioativo (²²⁸Th) em fluidos biológicos de indivíduos, após o consumo de castanha-do-Brasil. Entretanto, a ocorrência de câncer também está dentre os riscos, associadas à ingestão de alimentos radioativos, de forma que o monitoramento é uma forma de proteção à saúde (IRIGARAY *et al.*, 2007; BALONOV, 2008; CELIK *et al.*, 2008).

Em castanha-do-Brasil, são muito escassos os trabalhos que envolvam medida de radioatividade natural, no entanto, existe com mais facilidade trabalhos que envolvem vários alimentos incluindo a castanha-do-Brasil dentro do grupo de alimentos analisados.

Hiromoto *et al.*, (1996) analisaram amostras de castanha-do-Brasil comerciais para determinar a quantidade de radionuclídeos naturais e a taxa de risco radiológico resultante da ingestão pela população. Os valores médios de concentração, encontrados nas amostras analisadas, foram de $1,4 \pm 0,4 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ²³⁸U, $26,3 \pm 4,1 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ²²⁶Ra, $4,7 \pm 1,8 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ²¹⁰Pb, $16,5 \pm 4,3 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ²³²Th e $31,3 \pm 6,4 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ²²⁸Th. Estes valores resultaram em uma dose efetiva máxima por ano de 0,20 mSv por pessoa, considerando que uma pessoa coma no máximo 100g de castanha-do-Brasil por semana.

SHIRAISHI (2005) determinou, entre outras coisas, a concentração de ^{40}K em dezoito categorias de alimentos consumidos por japoneses (a castanha estava dentro da categoria de castanhas e grãos). O valor médio da concentração de ^{40}K encontrado, para a categoria de castanhas e grãos, foi de $200 \pm 1 \text{ Bq.kg}^{-1}$.

Em um estudo realizado por HENÁNDEZ et al., (2004) foi determinado a concentração e dose efetiva anual média de alimentos consumidos na Ilha de Tenerife, Espanha. Os valores médios da concentração para nozes foram de $150 \pm 10 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{40}K , $<0,09 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{137}Cs , $<0,76 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{210}Pb , $2,6 \pm 0,6 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{226}Ra , $<0,83 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{238}U (^{234}Th) e $0,53 \pm 0,10 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{228}Ra (^{228}Ac).

Anderson; Cunningham (2005) determinaram a concentração de radionuclídeos em alimentos selecionados pelo Programa de Estudo de Dieta Total da *United States Food and Drug Administration* (FDA). Os valores da concentração para uma mistura de castanhas foram de $171 \pm 14 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{40}K , $1,11 \pm 0,32 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{137}Cs , $4,3 \pm 1,1 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{226}Ra , $4,0 \pm 0,6 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{214}Bi , $3,2 \pm 0,8 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{232}Th , $3,7 \pm 0,5 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{212}Pb e $5,2 \pm 0,8 \text{ Bq.kg}^{-1}$ para ^{228}Ac .

A Tabela 6 contém os resultados de algumas pesquisas quanto à radioatividade da castanha-do-Brasil.

Tabela 6. Compostos radioativos em castanha-do-Brasil.

Fontes	Concentração
Turner et al. (1958)	$1.8 \text{ pCi/g Ra}^{226}$
Penna-Franca (1959)	2 pCi/g Ra^{228}
Penna-Franca et al. (1968)	$0.075\text{-}3.6 \text{ pCi/g Ra}^{226}$ ($3.1\text{-}113.5 \text{ pCi/g}$ em cinzas) ^a $0.16\text{-}3.6 \text{ pCi/g Ra}^{228}$ ($5.3\text{-}114.5 \text{ pCi/g}$ em cinzas) ^a
Smith (1971)	Acima de $6.6 \text{ pCi/g Ra}^{226}$ ^a
Hiramoto et al. (1996)	$6.7\text{-}63.6 \text{ Ra}^{226}$ (Bq/kg) ^b $10.1\text{-}63.4 \text{ Ra}^{228}$ (Bq/kg) ^b
Kouzes et al. (2004)	$37\text{-}260 \text{ Ra}^{226}$ (Bq/kg)
Parekh et al. (2008)	$14\text{+/-}1 \text{ Ra}^{224}$ (mBq/g) $31\text{+/-}1 \text{ Ra}^{226}$ (mBq/g) $31\text{+/-}3 \text{ Ra}^{228}$ (mBq/g)

^a na amêndoa; ^b max-min.

2.2.3 Espectrometria Gama

A espectrometria gama de alta resolução tem sido utilizada largamente na determinação de radionuclídeos em amostras ambientais, pois é possível determinar os emissores gama diretamente na amostra, obtendo-se uma identificação qualitativa e quantitativa dos radionuclídeos presentes na amostra (SCHEIBEL; APPOLONI, 2002).

A espectrometria gama permite a identificação simultânea de múltiplos radionuclídeos e utiliza atualmente, de preferência, detectores de germânio hiperpuros (HPGe), os quais apenas necessitam de resfriamento a nitrogênio líquido (- 196°C) quando em operação, ao contrário dos detectores de germânio dopado com lítio Ge(Li) (DA SILVEIRA, 2007).

As vantagens do uso da espectrometria gama com detector de HPGe, são devidas principalmente à sua resolução em energia, a boa resolução (aproximadamente 10^{-8} s), sua linearidade de resposta numa ampla faixa de energia, rapidez nas análises e o número de informações obtidas em uma única análise. Os detectores HPGe são geralmente construídos na geometria cilíndrica ou coaxial, o que permite trabalhar com volumes maiores de material, necessários para a espectrometria gama. Suas desvantagens são o elevado custo do detector, a necessidade de resfriamento com nitrogênio líquido e sua baixa eficiência, quando comparado com detectores que utilizam cristais de NaI (TI) de mesmas dimensões (DA SILVEIRA, 2007).

A técnica de espectrometria gama com detectores de elevada resolução utilizando cristais de germânio hiperpuro, tem boa precisão para análises de radionuclídeos naturais em amostras ambientais. O método é prático, não destrutivo, e o tempo de análise está intimamente ligado às concentrações dos radionuclídeos de interesse. Os métodos radiométricos como a espectrometria gama, não envolvem processos trabalhosos no tratamento das amostras e custos adicionais com reagentes (PAPACHRISTODOULOU et al., 2003).

2.3 Aflatoxinas

O nome micotoxina é derivado da palavra grega “Mykes” que significa fungo e “Toxicum” que significa veneno ou toxina. A doença ou síndrome (condição patológica) decorrente da ingestão de micotoxinas é denominada micotoxicose (SCUSSEL, 2002).

As micotoxinas são contaminantes provenientes do metabolismo secundário de fungos, com capacidade de causar alterações orgânicas. Podem ser letais em altas doses tanto para

animais quanto seres humanos pela ingestão de alimentos contaminados (PACHECO et al., 2006).

A exposição humana a micotoxinas pelo consumo de alimento contaminado é questão de saúde pública no mundo todo. Programas de monitoramento dos níveis de contaminação de alimentos por micotoxinas são essenciais para estabelecer prioridades em ações de vigilância sanitária. O grupo mais importante de micotoxinas, considerando-se a toxicidade e as legislações mundiais, são as aflatoxinas (AFLs). No Brasil, as AFLs são as únicas micotoxinas cujos níveis máximos em alimentos estão previstos na legislação. Este limite é comparável aos estabelecidos por outros países e recomendado pela Organização Mundial da Saúde e pela Organização para Alimentação e Agricultura (FAO/WHO, 1998).

Muitas das micotoxinas são termoestáveis, ou seja, não são inativadas pelo tratamento térmico e muitas vezes não têm seu efeito diminuído por processos de beneficiamento como peletização em rações e acondicionamento em latas. Pouco pode ser feito se houver a constatação de contaminação de um lote de produtos agrícolas. Alguns programas de descontaminação com produtos químicos são capazes de controlar o desenvolvimento de fungos e reduzir a concentração da micotoxina, mas deve-se levar em consideração a relação custo/benefício da atividade. Estes procedimentos de descontaminação não são eficientes em larga escala, tendo um custo muito elevado e com resultados ainda bastante discutíveis (BEZERRA, 2009).

O homem pode ser contaminado por micotoxinas através do consumo de alimentos processados ou in natura. Também pode ingerir carne de animais alimentados com ração contaminada, pois a toxina pode ser transmitida pelo corpo do animal através de sua carne, leite ou ovos. Alguns alimentos com contaminação potencial como o milho, podem ter seus produtos derivados como óleo refinado, isento da toxina, pois há a destruição da mesma no processo de transformação do produto (BEZERRA, 2009).

Estas toxinas podem causar diversos danos à saúde de humanos e animais. Além disso, a presença de AFLs em alimentos pode levar a sérias perdas econômicas em países exportadores de produtos agrícolas, pois lotes de alimentos contaminados são sistematicamente rejeitados por países importadores de alimentos (ZOLLNER et al., 2006). Em 1961 responsabilizou-se a ração proveniente do Brasil de conter o princípio tóxico causador da doença. Entretanto, o composto foi detectado também em rações de outros países. Estudos em 1962 identificaram a ingestão do alimento contaminado com grande número de hifas de *Aspergillus flavus* como causa da doença,

sendo então, um fator tóxico detectado por *Cromatografia em Camada Delgada* (CCD) e denominado de *aflatoxina*. Na detecção foram observados compostos com fluorescência azul e verde, sob luz ultravioleta (UV), isto é, *Aflatoxina B (Blue)* e *G (Green)* e suas frações B1, B2, G1 e G2, em que AFB1 é considerado o composto mais tóxico (KELLER et al., 2005).

AFLs são metabólitos de fungos, capazes de causar efeitos adversos à saúde de humanos (IARC, 1997) e representam um risco de contaminação ambiental, que pode estar presente em diferentes tipos de alimentos, principal fonte de exposição para o homem. Tal exposição pode ter efeito: agudo, imunossupressor, mutagênico, teratogênico, hepatotóxico, e a principal consequência da exposição crônica em humanos é o surgimento de carcinoma hepatocelular e outras patologias hepáticas (LU et al., 2007; HARRIS, 2007; TURNER et al., 2007; PHILIPS et al., 2008).

A série G das AFLs difere quimicamente da série B pela presença de um anel 3- lactona, no lugar do anel ciclopentanona. Uma dupla ligação 8, 9 é encontrada na forma de um éter vinil no anel terminal furano nas AFLs AFB1 e AFG1, mas não em AFB2 e AFG2. Essas variações que diferem as AFLs estruturalmente estão associadas também as suas atividades, sendo as AFLs B1 e G1 carcinogênicas e consideravelmente mais tóxicas que B2 e G2 (JAIMEZ et al., 2000).

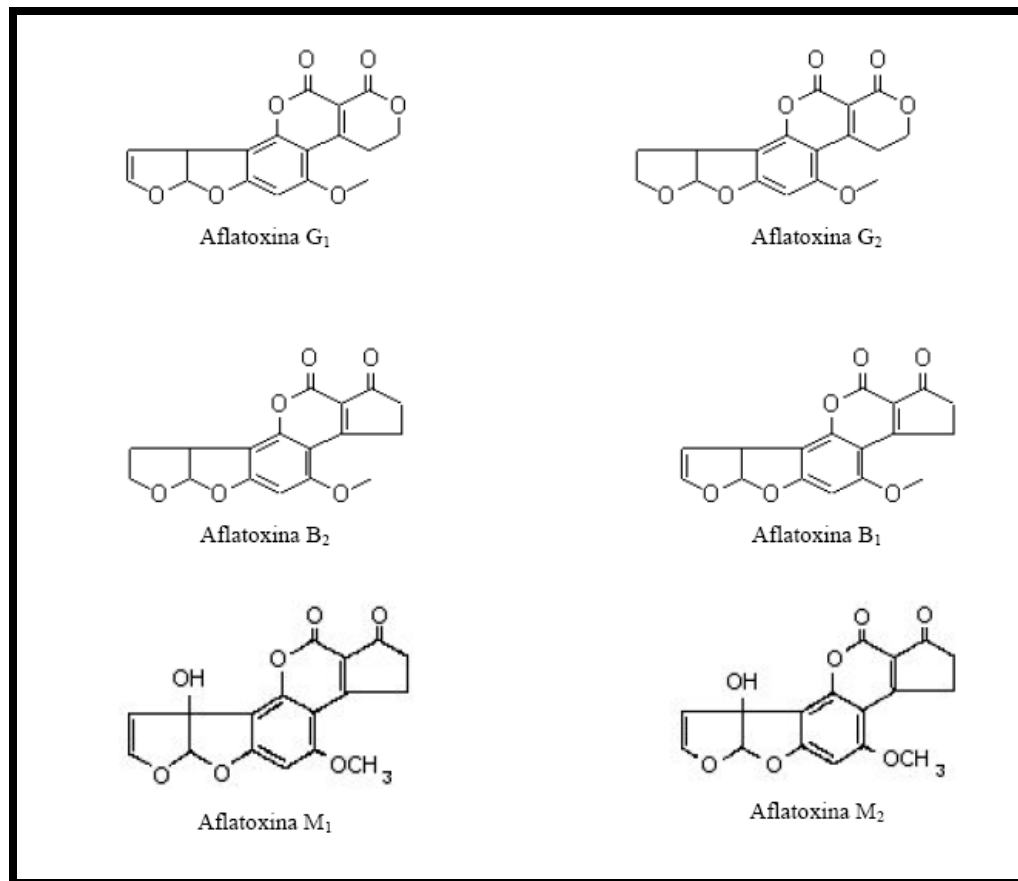
A aflatoxina M1 é um biotransformado da aflatoxina B1, formada através do processo de hidroxilação, produzindo assim um derivado hidrossolúvel, o que possibilita a sua excreção por fluidos corporais. É considerado um potente hepatocarcinogênico e sua contaminação em leite para consumo humano tem recebido grande importância em saúde pública (DA SILVA, 2005). A figura 6 apresenta as estruturas químicas das aflatoxinas B1, B2, G1, G2, M1.

As AFLs são furomarinas complexas contendo intensa fluorescência quando expostas à luz ultravioleta com comprimento de onda longo (365 nm). Esta propriedade é aproveitável para sua identificação e quantificação, quando presentes em diversos tipos de alimentos (PELLETIER; REIZNER, 1992).

São substâncias apolares, solúveis em solventes como o clorofórmio, metanol, benzeno, acetonitrila, etc. São instáveis a luz UV, mas bastante estáveis a temperatura acima de 250°C e não são afetadas pelo frio. Pequena ou nenhuma decomposição de AFLs é obtida sob condições normais de cozimento, pasteurização e torrefação de alguns tipos de alimentos (PATERSON; RUSSELL, 2006). Além disso, são incolores, inodoras e não alteram o sabor dos alimentos (PÁDUA; SILVEIRA; MARTINS, 2002). Agentes oxidantes, como água oxigenada e hipoclorito

de sódio, reduzem o teor de aflatoxinas no alimento, mas a utilização de tais soluções é impraticável uma vez que ocorre além da destruição de nutrientes, “flavor”, cor, textura e propriedades funcionais do alimento, a formação de resíduos tóxicos (PÁDUA; SILVEIRA; MARTINS, 2002).

Figura 5: Estrutura química das aflatoxinas (GIORDANO, 2009).



Em seres humanos, estudos de biomonitoramento individual de derivados AFB₁ N7 guanina tem demonstrado que as aflatoxinas constituem importantes fatores de risco, com uma provável interação sinérgica com o vírus da hepatite B, para o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (CHC) em populações expostas (OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

As AFLs absorvidas pelo organismo são distribuídas na corrente sanguínea e seguem diretamente para o fígado, devido ao efeito de primeira passagem, onde parte passa por

biotransformadores e poderá ser encontrada no sangue, cabelo, tecidos e produtos de excreção (CAVALIERE et al., 2006; JOLLY et al., 2006).

Há mais de 20 tipos de moléculas de aflatoxinas e seus derivados isolados, porém os principais tipos estudados continuam sendo a B₁, B₂, G₁ e G₂ (HUSSEIN e BRASEL, 2001). Esses compostos caracterizam-se pela elevada toxicidade que apresentam (ROSA, 1995). As aflatoxinas têm sido identificadas como fatores envolvidos na etiologia do câncer hepático no homem, conseqüente à ingestão de alimentos contaminados (MCLEAN e DUTTON, 1995).

A AFB₁ é a aflatoxina que apresenta o binômio causa/efeito (ingestão de alimentos contaminados/efeitos tóxicos) bem determinado. Sabe-se que a ingestão de alimentos com baixos teores de aflatoxinas com uma dada frequência e por tempo prolongado, pode levar ao aparecimento de carcinoma hepático. Por outro lado a ingestão de alimentos com alto grau de contaminação produz em geral, em curto prazo, efeitos agudos, caracteristicamente hepatotóxicos (HAAS, 2000).

A ação biológica da AFB₁ ligada à formação do composto 8,9-epóxido ocorre por meio de biotransformação hepática, em reações de fase I e II, em que algumas delas ativam o composto, enquanto outras reduzem sua toxicidade. Com exceção da formação do aflatoxicol, que é produto de enzimas da fração citossol do hepatócito, as demais reações são catalisadas por isoenzimas da fração microssômica hepática. A alta concentração do composto no fígado pode ser explicada pela alta permeabilidade da membrana do hepatócito, nos primeiros processos de biotransformação, requisito para sua carcinogenicidade e pela ligação covalente com macromoléculas hepáticas (PACHECO, 2007).

Aproximadamente 250.000 mortes são causadas por CHC anualmente na China e na África sub-saariana e são atribuídas aos fatores de risco entre os quais as aflatoxinas e o vírus da hepatite B (HUSSEIN e BRASEL, 2001). As diferenças extremas observadas na incidência do CHC entre os diversos países sugerem o envolvimento de fatores ambientais em sua etiologia. Dentre os fatores identificados, os que apresentam maior importância são as aflatoxinas e o vírus da hepatite B (HBV) (HARRIS, 1991).

A toxicidade das AFLs decresce de B₁ para G₂, ou seja, B₁>G₁>B₂>G₂. O efeito tóxico causado pelas AFLs pode ser de curta duração, ou seja, aflatoxicose aguda, ou de longa duração, determinado aflatoxicose crônica (SCUSSEL, 2002).

O efeito agudo é de manifestação e percepção rápidas, podendo levar o animal à morte, porque causa alterações irreversíveis, e é resultante da ingestão de doses geralmente elevadas. O efeito subagudo é o resultado da ingestão de doses não elevadas que provoca distúrbios e alterações nos órgãos do homem e nos animais, especialmente no fígado. Ambos os casos dependem da espécie animal (uma são mais susceptíveis que outras, da idade (os mais jovens são mais afetados), do estado nutricional e, também, do sexo. Sabe-se, também, que ela pode provocar cirrose, necrose do fígado, proliferação dos canais biliares, síndrome de Reye (encefalopatia com degeneração gordurosa do cérebro), hemorragias nos rins e lesões sérias na pele, pelo contato direto. Além disso, os produtos do seu metabolismo, no organismo (principalmente o 2,3 epóxioaflatoxina), reagem com DNA e RNA, a nível celular, interferindo com o sistema imunológico da pessoa ou do animal. Isto faz com que a resistência às doenças diminua (TEIXEIRA, 2008).

2.3.1 Fatores que influenciam a produção de aflatoxinas

Os fungos são elementos microbianos encontrados em todos os lugares, seja na água, no ar ou no solo. Existem milhares de espécies de fungos, e dentre estes milhares algumas espécies atacam ou apenas sobrevivem em produtos agrícolas. Alguns destes fungos possuem a capacidade de produzir toxinas, chamadas de micotoxinas (BEZERRA, 2009).

Existem micotoxinas que são benéficas para o homem, como é o caso da penicilina, mas com efeitos tóxicos apenas para a bactéria que lhe é sensível. Nos cultivos agrícolas, há pelo menos 100 fungos que são encontrados no próprio campo de produção ou em produtos alimentares armazenados, e que são capazes de produzir micotoxinas, sendo que 20 tipos de fungos são causadores de doenças em animais, que podem levar a problemas de saúde e até mesmo à morte. Visto que os fungos produtores de micotoxinas estão presentes quase que em todos os lugares, então eles são capazes de germinar, crescer e de produzir toxinas em uma grande variedade de produtos agrícolas. Para que isto aconteça, deve haver condições favoráveis de umidade, temperatura e aeração para que o fungo cresça e haja a produção da toxina (BEZERRA, 2009).

Alguns fatores intrínsecos dos alimentos podem fornecer substratos para os fungos produtores de AFLs. Outros fatores externos também precisam ser controlados para a segurança do alimento. Esses fatores podem ser divididos em:

a) Fatores Intrínsecos

Composição nutricional: a composição dos alimentos, em termos de teor de proteínas, carboidratos, lipídios e outros componentes, influencia diretamente na curva de crescimento dos microorganismos, assim como na natureza do processo de deterioração dos alimentos. A castanha-do-Brasil por possuir elevado teor lipídico (68,2%) é um alimento muito susceptível a rancificação. Além disso, fungos produtores de aflatoxinas usam glicerina (componente dos óleos) como fonte de calor. Dentre os ácidos graxos presentes na castanha, temos em ordem decrescente, os monoinsaturados, polinsaturados e saturados na proporção de 25,8; 23,0 e 16,6% (respectivamente) que podem ser utilizados por fungos. Também é rica em açúcares, principalmente a sacarose tornando-se um ótimo substrato para os microrganismos (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Umidade: Outro fator no desenvolvimento de fungos em alimentos é o conteúdo de umidade, que é usualmente expresso em termos de umidade absoluta do material e das exigências mínimas apresentadas pelos fungos com relação ao seu desenvolvimento. Em geral, os fungos são mais tolerantes que as bactérias aos meios com baixa umidade. Entretanto, este fator, não garante armazenagem segura, pois outros fungos podem crescer e liberar água e calor, aumentando a temperatura e umidade nos grãos adjacentes. A castanha-do-Brasil, durante a colheita na floresta possui um conteúdo de umidade elevado (30%) propício ao desenvolvimento de fungos. É necessário reduzir esta umidade durante o armazenamento na floresta para evitar proliferação durante seu transporte até as usinas de beneficiamento. Durante seu processamento, ela é seca atingindo conteúdo de umidade que varia de 3 a 6,5%. Faixa esta considerada segura para controlar a proliferação fúngica (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Atividade de água: O teor de atividade de água (a_w) também pode interferir no metabolismo de fungos já que é medido em escala de 0 a 1 (relação entre a pressão de vapor da água no alimento e a pressão de vapor da água pura) e reflete o grau em que a água está ligada aos componentes do substrato, não se encontrando disponível para as reações bioquímicas e para o crescimento de microrganismos. A maioria das leveduras não cresce em a_w abaixo de 0,65 e os fungos em a_w abaixo de 0,70. Com poucas exceções, é possível afirmar que alimentos desidratados serão estáveis, à deterioração por microorganismos, quando $a_w < 0,70$ (CODEX ALIMENTARIUS, 2006), apesar de que as reações químicas e enzimáticas prosseguem até a_w próximo de zero. Quanto ao pH (potencial hidrogeniônico), há microrganismos menos tolerantes

aos meios ácidos. Os fungos, entretanto, têm condições favoráveis em $\text{pH} < 4,5$. A faixa de pH ótimo, para a formação das aflatoxinas e o crescimento do fungo é principalmente de 5 a 6.

O **potencial de oxi-redução**, por sua vez, representa a disponibilidade de O_2 no alimento, e, nesse aspecto, o potencial dos fungos pode ser: *aeróbio (+)*; *anaeróbio (-)* e *facultativo* (tolerantes a presença ou ausência de O_2). Cepas de *A. flavus* demonstraram ser altamente influenciadas, pela associação de pH e a_w , em temperaturas específicas, quanto à produção de AFLs (ARRUS et al., 2005b).

b) Fatores Extrínsecos

A alternância de períodos de chuva e sol da região Amazônica dificulta o controle dos fatores extrínsecos determinantes para o metabolismo de cepas aflatoxigênicas, como a temperatura e a umidade (CAMPO/PAS, 2004).

A **temperatura** é o fator que interfere mais diretamente no desenvolvimento fúngico, pois é menos restritiva que a umidade. Várias espécies de fungos crescem durante a armazenagem com média de 30°C (ambiente), em regiões tropicais, mesmo que sejam afetadas por outros fatores (ARRUS et al., 2005a).

Umidade Relativa: da mesma forma, umidades relativas entre 60 e 90%, também estão associadas com a produção de aflatoxinas em nozes (SCUSSEL, 1998). O efeito de diferentes umidades relativas e temperaturas na produção de aflatoxinas, em castanha-do-Brasil processada, foi efetivo para controlar a contaminação abaixo de 4 ug.kg^{-1} (ARRUS et al., 2005b), que parece ser favorecida entre 27 e 30°C (CAMPO/PAS, 2004).

Microclima: o crescimento de fungos depende também de outras condições ambientais que envolvem o substrato, tais como, o ambiente gasoso (composição da atmosfera gasosa). Alguns fungos podem crescer em baixas concentrações de O_2 sendo afetados somente em concentrações inferiores a 0,2 %, ocorrendo pouco crescimento em ambientes com dióxido de carbono (CO_2) ou nitrogênio (N_2). Portanto, misturas de gases podem ser usadas para reduzir a concentração de O_2 . Ambientes com atmosfera controlada/modificada também têm sido estudados durante o transporte e armazenamento de alimentos para prevenir o crescimento e formação de toxinas. (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Tempo de armazenamento: a armazenagem é considerada uma etapa crítica, pois dependendo de sua duração e condução, poderá ocorrer o desenvolvimento do fungo e a produção

de aflatoxinas (CAMPO/PAS, 2004). O período entre extração/coleta até o transporte seja nas embarcações ou caminhões, em ambientes com elevada umidade relativa, pode ser superior a 50 dias. Considerando as condições de temperatura e umidade da região, mesmo a armazenagem por 30 dias ou menos é para ser considerada preocupante (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Competição microbiológica: a produção de AFLs também pode ser afetada pela competição microbiológica entre diferentes cepas de *Aspergillus*. Martins et al., (2000) confirmaram a interação sinérgica do desenvolvimento de fungos e um potencial aumento de produtividade da aflatoxina.

Fungicidas: os fungicidas são bastante utilizados para controlar e prevenir o crescimento de fungos nos produtos agrícolas. Contudo, existem limitações no uso destes compostos tais como: toxicidade para animais, excessivo custo, dificuldade de aplicação, efeitos indesejáveis na qualidade dos grãos e pouca toxidez para os fungos de estocagem (LORINI, 2002).

Danos mecânicos: os danos mecânicos favorecem a absorção de umidade e facilitam a invasão e a penetração dos esporos de fungos no interior altamente nutritivo, desses substratos, levando ao desenvolvimento rápido dos fungos e conseqüentemente aumento dos níveis de toxinas (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Luz: a produção de toxina é inibida na presença de luz ultravioleta e infravermelha (SCUSSEL, 1998).

As AFLs podem ser produzidas por três espécies de *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius*. O *A. flavus* produz apenas AFLs do grupo B, enquanto as outras duas espécies produzem AFLs dos grupos B e G (CREPPY, 2002). Os fungos se desenvolvem em condições ambientais favoráveis, semelhantes ao clima (temperatura de 30°C-35°C) e umidade relativa (80% - 95%) encontrados na Região Amazônica. Região esta onde se concentra a maior parte de área extrativista da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) (PACHECO et al., 2006).

A produção de micotoxinas está ligada ao crescimento do fungo; sem o crescimento geralmente a produção não ocorre. Entretanto, a presença do fungo produtor não indica a presença da micotoxina, especialmente se o crescimento não ocorrer. Portanto, o entendimento dos fatores que permitem o crescimento do fungo e a produção de micotoxinas é de grande importância para o desenvolvimento de métodos de controle (BULLERMAN et al., 1984).

Condições de umidade e temperatura aumentam a probabilidade de desenvolvimento do *Aspergillus* e produção de AFLs, situação agravada no período chuvoso. A biodegradação de

sementes e grãos, no campo e durante o armazenamento, limita o acondicionamento seguro e o valor nutricional desses alimentos. (TEIXEIRA, 2008)

Os fungos e insetos são provavelmente os mais importantes organismos que provocam deterioração. Eles podem afetar cor, odor, sabor, valor nutricional, bem como produzir AFLs (SABINO, 1996).

2.3.2 Contaminação por fungos em castanha-do-Brasil

Algumas amêndoas, como no caso da castanha-do-Brasil, também são bastante suscetíveis ao ataque de fungos, devido às condições de produção na floresta, transporte, e armazenamento em condições deficientes, com grande chance de produção de micotoxina (BEZERRA, 2009).

A castanha-do-Brasil durante toda a sua trajetória comercial sofre ação depredatória. O atrito das sementes por ocasião do transporte produz rachaduras na casca. O clima e o grau pluviométrico na época da safra são fatores que favorecem a penetração de insetos, parasitas e microrganismos atuando junto à amêndoa deteriorando-a total ou parcialmente. Dentre os microrganismos responsáveis, os fungos filamentosos saprófitas, são os que mais participam do processo. Presentes no solo, água, vegetais e veiculados pelo ar, encontram-se em permanente contato com o produto, constituindo-se em principal ameaça à sua integridade (CASTRILLÓN; PURCHIO, 1988).

Os primeiros relatos de problemas da segurança toxicológica da castanha-do-Brasil datam da década de 60, em que foi relatada a “podridão da castanha” causada por fungo do gênero *Aspergillus* (ALMEIDA, 1963). A castanha-do-Brasil que é mais consumida no estrangeiro, começou a sofrer medidas restritivas após o evento de 1960 na Inglaterra, em parte, por ser o alimento proveniente do Brasil (LIRA, 1976).

A presença de fungos nos alimentos alertou os países importadores de grãos, no sentido de fiscalizar mais intensamente estes produtos adquiridos, estabelecendo ao mesmo tempo, padrões fixando a tolerância dos níveis de contaminação. Considerando-se a importância dos fungos nos processos de deterioração nos produtos alimentícios e de eventual produção de aflatoxinas nas amêndoas, alimento básico da região Amazônica e fonte de divisas do país, tornou-se necessário a realização de pesquisas sobre as espécies fúngicas contaminantes e um estudo sobre a frequência de *Aspergillus* sp., produtores de aflatoxina nesse substrato (CASTRILLÓN; PURCHIO, 1988).

Consideram-se os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* os principais envolvidos com castanha-do-Brasil. Entretanto, nem sempre a presença de fungos aflatoxigênicos está diretamente relacionada à presença da AFLs em castanha-do-Brasil, pois em amostras coletadas diretamente da floresta havia ausência de AFLs, apesar da presença de cepas aflatoxigênicas (CARTAXO et al., 2004; ARRUS et al., 2005a).

Na Floresta Amazônica os fatores que influenciam os fungos na produção de AFLs estão presentes em maior ou menor escala, de forma que é necessário que desde a disposição dos ouriços na floresta, até o beneficiamento seja evitado favorecer as condições necessárias às cepas aflatoxigênicas (CAMPO/PAS, 2004).

Em castanhas retiradas diretamente da floresta foi constatada a presença de fungos filamentosos, porém, AFLs, não foram detectadas (CARTAXO et al., 2004). Por outro, pode ocorrer a interação de cepas de *Aspergillus flavus* não-toxigênicas com *Aspergillus parasiticus* com sinergismos na produção de AFLs (MARTINS et al., 2000). A casca da castanha, por ser rígida e rugosa pode conferir proteção contra o ataque de fungos à amêndoa, enquanto rachaduras na casca permitem a entrada de microrganismos causadores de contaminação (FREIRE et al., 2000).

Foram identificadas espécies de *Aspergillus* em castanha de unidades de beneficiamento (SOUZA et al., 2003) e em castanha com casca adquirida no varejo (BAYMAN et al., 2002). Já em amostras procedentes de Belém-PA, além de bolores, foram identificadas leveduras, como por exemplo, *Pichia sp* e *Rhodotorula sp*. (FREIRE; OFFORD, 2002). Na tabela 7 estão apresentados de forma resumida alguns dos fungos isolados da castanha-do-Brasil.

Tabela 7. Fungos identificados em castanha-do-Brasil in natura e pós-processamento com ou sem casca, reportados na literatura. (PACHECO, 2007).

Tipo de Castanha	Procedência	Local de coleta	Nº Amostrs	Fungos	Autores
[A] NÃO PROCESSADA (COM CASCA)					
[A.1] Da Floresta					
	Peru	Peru	15 ^a	<i>A.Wentii, Penicillium sp</i>	Arrus et al. (2005a)
	Acre	Acre	4 ^b	<i>A.flavus, A.niger</i>	Cartaxo et al. (2003)
[A.2] Das Comunidades					
Antes das BPM ^c	Amazonas	Amazonas	- ^d	<i>A.zonatus, A.flavus, A.awamon, A.ficcum, A.tubingensis, a.oryzae, A.japonicus, A.fetidus, A.flavofurcatis, a.niger, a.pulverulentus, A.parasiticus, Fusarium sp, Iddriela lunata, Gliocadium, Trichoderma harzianum, Scopulanopsis brumotii, Mortierella, Verticitiadiela, Micelia sterilia</i>	Simões (2004)
Após as BPM ^c	Amazonas	Amazonas	-	<i>Acremonium strictum, A.itaconicus, A.ficcum, A.japonicus, A.niger, A.oryzae, Cladosporium sphaerospermum, Trichoderma hamatum, P.glabrum, P.fellutano, Micelia sterilia, Gliocadium viridi, Exophiala, eupenicilium, Cylindrocarpon magnudianum, Colletotrichum</i>	
.....	-	-	-	<i>A.flavus, A.niger, A.fumigatus, A.clavatus, P.verrucosum, P.viridicatum, P.citrinum, F.sacchari, F.oxysporum, F.vercitiiodis, Alternaria alternata</i>	Campo/PAS (2004)
[A.3] Feira Livre					
	-	Amazonas	Ouriço	<i>Aspergillus sp, Candida sp, Cladosporium sp, Fusarium sp, Geotrichum sp, Penicillium sp, Cephalosporium sp, Phialoopora sp, Torulopsis sp, Trichodermasp, Verticillium sp</i>	Castrillon e Purchio (1988)
[B] PROCESSADA (DESIDRATADA)					
[B.1] Com casca					
No beneficiamento	-	Amazonas	12 ^e	<i>Pichia sp, Rhodotorula sp, sacharomyces sp, Candida sp</i>	Pacheco e Scussel (2007) ^c
	Acre	Acre	72 ^f	<i>A.niger, A.flavus, Rhizopus sp, Trichoderma sp, Fusarium sp, F.sacchari, T.viridi, P.citrinum, a.clavatus, F.oxysporum, Trichoderma harzianum</i>	Souza et al. (2003)
	-	Amazonas	30 ^g	<i>A.flavus, A.niger, Penicillium sp, Fusarium sp,</i>	Pacheco (2003)

Gliocadium sp, Chalara sp, Syncephalostrum sp, Absidia SP

[B.2] Sem casca					
Embalagem comercial					
Não-esterilizada		Belém (PA)	2 ^h	<i>Acinetobacter baumannii, B.cereus, B.macerans, B.subtilis, E.coli, E.sakazakii, Pichia sp, Rothayibacter tritici, Rhodotorula sp</i>	Freire e Offord (2002)
Esterilizada ⁱ	-	Belém (PA)	2 ^h	<i>B.macerans, B.pumilis, S.aureus, Pichia sp</i>	
	-	Belém (PA)	4 ^j	<i>Acremonium curvulum, A.flavus, A.fumigatus, A.niger, A.tamaritii, Cunninghamella elegans, Exophiala sp, Fusarium oxysporum, P.citrinum, P.glabrum, Phialophora sp, Phoma sp, Pseudallescheria boydii, Scopulariopsis sp, Thielavia terricola, T. citrinoviride,</i>	Freire e Kozaiewicz, Paterson (2000)
Não-esterilizada	-	Califórnia	59 ^k	<i>A.flavus, A.niger, A.fumigatus, A.nidulans, A.tamaritii, Penicillium sp, Rhizopus</i>	Bayman, Baker e Mahooney (2002)
Esterilizada ⁱ	-	Califórnia	51 ^k	<i>A.flavus, A.niger, A.fumigatus, A.nidulans, A.tamaritii, Penicillium sp, Rhizopus</i>	Bayman, Baker e Mahooney (2002)

^a total de frutos (ouriços) analisados; ^b amostras de 1,5 kg com análises efetuadas em diferentes tempos de armazenamento (0,30,60 e 90 dias) em que *A.flavus* e *A.niger* foram predominantes, entretanto com 60 dias houve presença de *F.sachari* e *F.oxysporum*; ^c boas práticas de manejo; ^d não informado; ^e 40 kg cada; ^f 1 kg cada; ^g 2,5 kg cada; ^h 2,0 kg cada; ⁱ amostra passou por processo de esterilização antes da análise; ^j 500g; ^k unidades.

2.3.3 Contaminação por aflatoxinas em castanha-do-Brasil

A contaminação de produtos como a castanha-do-Brasil por AFLs vem dificultando a exportação dos mesmos a países desenvolvidos, onde há rígido controle dos limites de tolerância de AFLs (DA SILVA, R.A. et al., 2007). Assim, estudos sobre a natureza da contaminação são necessários e tem sido desenvolvido a fim de administrar o problema e melhorar a qualidade da castanha brasileira (MAPA, 2002; PACHECO, 2003; ARRUS et al., 2005a; ARRUS et al., 2005b).

Dentre os aspectos envolvidos na contaminação estão: as características químicas das AFLs, os fatores ambientais, tecnológicos e ainda, a ausência ou deficiência dos procedimentos e sistemas preventivos na cadeia produtiva que garantam a inocuidade de alimentos, como a castanha-do-Brasil (PACHECO, 2003).

A associação da contaminação por AFLs e a castanha-do-Brasil representa preocupação não só com o aspecto comercial, mas principalmente com a saúde pública, pois são substâncias produzidas em condições ambientais específicas, isto é, semelhantes às da região Amazônica (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Alguns trabalhos têm sido publicados sobre a contaminação por AFLs em castanha-do-Brasil. O que tem sido observado de maneira geral é que em castanha com casca há maior probabilidade de encontrar unidades contaminadas do que nas descascadas. A porcentagem de contaminação em castanhas avaliadas em alguns estudos realizados na região Amazônica foram de 3 a 9% sendo que algumas amostras apresentaram contaminação acima do permitido pela União Européia (2 e 4 ppb para AFB₁ e AFLs total, respectivamente) (CASTRILLÓN, 1984; PACHECO, 2003).

Entretanto, a aplicação de procedimentos (Boas Práticas de Manejo - BPM) quanto à armazenagem pode influenciar na diminuição da ocorrência de aflatoxina em castanhas ainda nas comunidades extrativistas (SIMÕES, 2004).

Diferentes teores de AFLs foram detectados em castanha-do-Brasil (CASTRILLON e PURCHIO, 1988; STEINER et al., 1992; IOANNOU-KAKOURI et al., 1999; FREIRE et al., 2000; THUVANDER et al., 2001, CALDAS et al., 2002; SCUSSEL, 2004). Entretanto, alguns trabalhos não detectaram AFLs em castanha-do-Brasil (KERSHAW, 1985; CANDLISH et al., 2001; PACHECO, 2003) ou detectaram baixos níveis (PACHECO e SCUSSEL, 2007).

Na Bolívia, em estudo de material destinado à alimentação animal, elaborado com base em castanha-do-Brasil *in natura* com casca, resultados demonstraram média de aflatoxina de 301 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (56-608 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Foi discutido que a principal causa da contaminação elevada em parte das amostras pudesse estar relacionada com a contaminação por danos na casca ou por insetos, apesar de que a casca, por ser rígida e rugosa pode conferir proteção à amêndoa contra a entrada de microrganismos causadores de contaminação (NAGASHIRO et al., 2001). A presença de danos na casca pode reduzir o risco do consumo de castanha contaminada, pois o consumidor pode ter habilidade de separar visualmente a castanha contaminada independente de sua idade, sexo, instrução ou etnia (MARKLINDER et al., 2005). Em outro estudo castanhas *in natura* (49) e *processadas* (71), analisadas em CCD, a contaminação foi apenas em amostras *in natura* com faixa de 2,4 a 8,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (MORALES; FLORES, 1997).

Da GLORIA et al. (2006) verificaram que castanhas da linha de beneficiamento, com amostras visualmente classificadas como (“primeira”, avariada”, “cascuda” e “pedaços”), foi observado que 0, 3, 5, 10 amostras dos tipos primeira, cascuda, pedaços e avariada, respectivamente apresentaram contaminação por AFLs. Os níveis de contaminação por AFLs foram de 2-36, 3-58 e 2-529 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para os tipos cascuda, pedaços e avariada, respectivamente. Estes resultados mostraram que houve diferença nos níveis de contaminação entre os tipos visuais estudados e que a separação destes constitui-se em um instrumento efetivo para redução dos níveis de contaminação.

Na Tabela 8 estão reunidos alguns dos resultados das várias pesquisas sobre a presença de AFLs em castanha-do-Brasil.

Tabela 8 - Contaminação por aflatoxinas em castanha-do-Brasil (PACHECO, 2007).

Tipo	Procedência	Local de Coleta	Nº Amostras	Quantidade (Kg)	Σ AFLs (µg/Kg)			Método	Detecção Σ AFLs (µg/Kg)		Autores
					Méd	Min.	Máx.		LD	LQ	
[A] Não Processada (crua e com casca)											
<i>A.1: Floresta:</i>	Peru	Ouriço da Árvore	15	- ^a	ND ^p	NA	NA	ELISA	1.75	NI	Arrus et al. (2005a)
	Brasil	Chão da Floresta	4	1.5	ND	NA	NA	CCD	NI	NI	Cartaxo et al. (2003)
<i>A.2: Comunidades</i>	Brasil	Após 1 ^a Estocagem ^c	40	30	4.9	2.0	11.5	LCMS/MS	0.195	0.39	Pacheco e Scussel (2007 ^a)
	Brasil	Após 1 ^a Estocagem ^d	40	30	2.0	1.2	4.5	LCMS/MS	0.195	0.39	
	Brasil	Após 1 ^a Estocagem ^e	NI	NI	20.5	0.6	16.0	CCD	0.8	NI	Simões (2004)
	Brasil	Após 1 ^a Estocagem ^f	NI	NI	1.0	1.0	1.1	CCD	0.8	NI	
Após 2 ^o Estocagem	Brasil	Embarcações Porto da usina	120	30	105.23	4.0 ^g	250 ^g	CCD	2.0	NI	Pacheco (2003)
	Brasil		16	1	11.13	4.8	19.2	CCD	1.5	NI	Scussel (2006)
[B] Processada (Desidratada)											
[B.1] Fábrica											
<i>Com casca</i> (Tipo Exportação)	Brasil	Área de Expedição ^h	36	12	1.2	1.6	6.0	LCMS/MS	0.195	0.39	Pacheco e Scussel (2007b)
	Brasil	Área de Expedição	3 ⁱ	15	5.616 ^j	NA	NA	LCMS/MS	0.195	0.39	Mello Robert e Scussel (2007)
	Itália ^l	Suécia	100	0.3	-	1.4	557	HPLC	NI	NI	Marklinder et al. (2005)
	Brasil	Depósito da Usina	10	-	-	0.1 ^g	2.25 ^g	CCD	NI	NI	Castrillon e Purchio, (1988)
<i>Sem casca</i>	Brasil	Área de Classificação ^o	27	6.0	1.1	1.4	7.4	LCMS/MS	0.195	0.39	Pacheco e Scussel (2007b)
	Brasil	Área de Classificação ^o	30	2,5	ND	NA	NA	CCD	2.0	1,5	Pacheco (2003)
[B.2] Comércio											
<i>Com casca</i>	NI	NI Inglaterra	1	1-2	ND	NA	NA	CCD	5	NI	Kershaw (1985)
	NI	Reino Unido	-	0,-1	ND	NA	NA	CLAE	2	NI	Candlish et al. (2001)

		(Glasgow)									
<i>Sem casca</i>	Brasil	Japão	4	0.2-1	14.5	NI	NI	HPTLC	0,6	NI	Tabata et al. (1993)
	Brasil	Suíça	1 ^m	8	-	1.88	79.8	CCD	0.5-2	NI	Steiner et al. (1992)
	NI	Suécia	17	0.1 a 1	-	0.01	2500	CLAE	0.01	NI	Thuvander et al. (2001)
	Brasil	Manaus	27	02-05	1.1	1.4	7.4	LCMS/MS	0.195	0.390	Pacheco e Scussel (2007b)
	Brasil	Manaus	30	0.2-0.5	45.2	8.0	630	CCD	2.0	NI	Pacheco (2003)
		África do Sul	51	20	21.0	8.3 ^g	20 ^g	HPTLC	0.1	NI	Ioannou-Kakouri et al. (1999)
	Brasil	Brasília	9	Mínimo 1	27.0	48	294	CCD	8	NI	Caldas et al. (2002)
	Brasil	Acre	-	-	ND	NA	NA	CCD	10	NI	Souza e Menezes (2004)
	Brasil	Belém (PA)	22 ⁿ	-	-	66	21.679	CCD	0.2	1	Da Glória et al. (2006)
	Brasil	Santa Catarina	63	-	ND	ND	ND	CCD	2	2	Scussel (2004)
	Brasil	Belém (PA) ^o	4	0.5	ND	NA	NA	CLAE	-	NI	Freire e Offord (2002)
	Brasil	Belém (PA) ^p			29.2	NI	NI				

^a não informado; ^b: Não Detectado; ^c:Comunidades de Itacoatiara/Autazes; ^d:Comunidades de Boca do Acre/Amaturá; ^e: Antes das BPM; ^f: Depois das BPM; ^g: AFL B1; ^h: Amostras da safra de 2007; ⁱ:Do total de 15 kg dividido em três grupos de acordo com o tamanho (grande, médio e pequeno); ^j: resultado de AFLB1 para amostras do grupo de tamanho pequeno; ^k: País da beneficiadora que forneceu as amostras de castanha-do-Brasil para o estudo e não informada a origem; ^m : um lote de 42.286 kg; ⁿ: 22 amostras rejeitadas no estudo; ^o: Castanhas classificadas de Boa Qualidade; ^p: castanhas classificadas em Baixa Qualidade.

2.3.4 Legislação

Devido ao risco da presença de micotoxinas em alimentos, diversos países têm estabelecido legislações, principalmente para AFLs.

No Brasil, o Ministério da Saúde estabeleceu em 1977, a Resolução nº 34/76 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), o limite máximo aceitável de AFLs para alimentos, em 30 µg/kg, (BRASIL, 1976). Este parâmetro é adotado atualmente pela fiscalização para cada lote de castanha-do-Brasil, com ou sem casca.

A Bolívia, embora seja o país que mais exporta Castanha-do-Brasil beneficiada, sendo inclusive a maior parte importada do Brasil como matéria prima, não possui legislação para micotoxinas. Entretanto, o Peru, outro país exportador, estabelece um limite máximo de 10 µg.kg⁻¹ para todos os alimentos (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Em 1998, a União Européia (EU), por meio da Diretiva 98/53/CE (EU, 1998) estabelece exigências referentes aos métodos de colheita de amostras e os métodos de análises para o controle oficial de teores de certos contaminantes em alimentos, incluindo AFLs e a castanha-do-Brasil a serem cumpridas. Já em 2001, por meio do Regulamento N°466/2001/EC foi estabelecido o limite máximo de AFLs para castanha-do-Brasil destinada ao mercado europeu, com redação no Regulamento CE N°563/2002, fixando os limites de AFLs em: 2 µg.kg⁻¹ (AFB1) ou 4 µg.kg⁻¹ (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) e em 2003, por meio da Directiva 2003/494/EC, estabeleceu condições especiais à importação de castanha-do-Brasil com casca, do Brasil (EU, 2003). Isto levou o governo brasileiro a definir legislações com normas para cadeia produtiva, envolvendo a amostragem (coleta, preparo e tamanho da amostra), método analítico e de preparo, bem como diretrizes para aplicação dos princípios de BPF/BPM e do APPCC pelos extrativistas e usinas de beneficiamento (BRASIL, 2004). Na Tabela 9, estão citados os limites máximos permitidos utilizados em alguns países, incluindo a América Latina e Mercosul, para AFLs em alimentos em geral.

Tabela 9. Limites máximos permitidos para aflatoxinas em alimentos em diversos países

Fonte: PACHECO; SCUSSEL (2006)

País	Limite máximo ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Alimentos
África do Sul	5 (AFB1) 10 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Todos os alimentos
Austrália	5 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Todos os alimentos
Canadá	15 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Nozes e produtos
Estados Unidos	20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Todos os alimentos
Filipinas	20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Nozes e seus produtos
Índia	30 (AFB1)	Todos os alimentos
Israel	5 (AFB1) 15 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Nozes, amendoim, farelo de milho, figos e seus produtos
Japão	10 (AFB1)	Alimentos em Geral
Nova Zelândia	5(AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Todos os alimentos
União Européia	2 (AFB1) 4 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Amendoim, nozes em geral e frutas secas para consumo direto ou como ingrediente de alimentos
América Latina		
Argentina	Zero (AFB1) 20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 5 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 30 AFB1	Alimento infantil Derivados de amendoim Milho Farinha de Soja
Brasil	20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Amendoim (<i>toasted, roasted, com/sem pele</i>) Pasta de amendoim Farinha de milho Milho (<i>integral/quebrado/moído</i>) (<i>integral/ sem germen</i>)
Bolívia	NH b	NH b
Colômbia	20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 30 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 10 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Alimentos Cereal (sorgo, mileto) Oleaginosas Sementes de gergelim
Mercosul	20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Amendoim (<i>com/sem pele</i>) Amendoim (<i>torrado</i>) Pasta de amendoim Farinha de milho (<i>integral/sem germen</i>) Milho Corn meal
Peru	10 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Alimentos
Suriname	5 AFB1 5 AFB1 30 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Amendoim Produtos de amendoim Leguminosas Milho
Uruguay	30 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 20 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 30 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 30 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 10 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) 3 (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2)	Amendoim Produtos de amendoim Alimentos e Especiarias Derivados de soja Frutas secas Côco Alimento infantil

^a maior exportador de castanha-do-Brasil, ^b não há legislação

2.3.5 Métodos de ensaios para aflatoxinas em castanha-do-Brasil

Atualmente, os métodos utilizados para análise de AFLs estão principalmente fundamentados em cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de fluorescência e imunoenaios (AOAC, 2005).

Para a escolha de um método de avaliação de AFLs em castanha do Brasil é necessário levar em conta os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) a fim de atender as exigências da legislação, que no caso da União Européia, o limite estabelecido é de $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para AFL B₁ e $4 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para o somatório das quatro AFLs. Para a legislação brasileira o limite máximo estabelecido é $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

A técnica de CCD é recomendada pela AOAC (2000) para determinação de AFLs em diversos produtos. O baixo custo e a simplicidade são as principais vantagens dos procedimentos analíticos baseados na CCD. O método tem sido eficiente na obtenção dos resultados em diversas pesquisas (PACHECO, 2003; DA GLÓRIA et al., 2006; SCUSSEL, 2004).

Em um estudo realizado por Xavier e Scussel (2007) foi desenvolvido um método para determinação de AFLs em castanha do Brasil utilizando espectrometria de massa/massa (MS/MS) acoplado a um cromatógrafo líquido (LC). O sistema LC-MS/MS mostrou alta sensibilidade, ou seja, capacidade de detecção de níveis muito baixos das toxinas (0, 195), além de rapidez e segurança dos resultados. Em outro estudo, Pacheco e Scussel (2007) confirmaram a sensibilidade do método por LC-MS/MS na avaliação de AFLs em castanha do Brasil tipo exportação onde o LOD e o LOQ obtidos foram 0, 195 e 0,39, respectivamente.

2.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C. P. *Castanha-do-pará, sua exportação e importância na economia amazônica*. SAI n. 19. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1963. 86 p.

AMARAL, E. C. S. *Modificação da exposição à radiação natural devido a atividades agrícolas e industriais numa área de radioatividade elevada no Brasil*. 1992. 132p. Tese (Doutorado). UFRJ, RJ.

AMARAL, R. S.; VASCONCELOS, W. E.; BORGES, E.; SILVEIRA, S. V.; MAZZILLI, B. P. Intake of uranium and radium-226 due to food crops consumption in the phosphate region of Pernambuco-Brazil. *Journal of Environmental Radioactivity*, v. 82, p. 383-393, 2005.

AMAZONAS, Governo do Estado. Cadeia produtiva da castanha-do-Brasil no estado do Amazonas. Manaus: SDS. *Série técnica meio ambiente e desenvolvimento sustentável*, 3. 28p. II, 2005.

ANDERSON, D. L.; CUNNINGHAM, W. C. Analysis of Total Diet Study Foods for Gamma-Ray Emitting Radionuclides. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. Vol. 264 (2), p. 371-376, 2005.

ANDRADE, E. H. A., Maia, J.G. S., Streich, R., Marx, F. Seed Composition of Amazonian *Lecythidaceae* Species: Part 3 in the Series .Studies of Edible Amazonian Plants. *J. of Food Comp. and Analysis*, 12, p. 37- 51, 1999.

AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17 ed., v. 2. Gaithersburg, 2000.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of AOAC International 18th*, Horwitz, W. and Latimer, G. W. Jr. eds. Gaithersburg, Maryland, USA. 2005.

ARRUS, K.; BLANK, G.; ABRAMSON, D.; CLEAR, R.; HOLLEY, R.A. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in Brazil nuts. *J. of Stor. Prod. Research*, v.41, p.513-527, 2005a.

ARRUS, K.; BLANK, G.; CLEAR, R.; HOLLEY, R.A. e ABRAMSON, D. Microbiological and aflatoxin evaluation of Brazil nut pods and the effects of unit processing operations. *J. Food Prot.* 68, p. 1060-1065, 2005b.

Associação do Povo Indígena Zoró - APIZ: *Boas práticas de coleta, armazenamento e comercialização da castanha-do-Brasil: Capacitação e intercâmbio de experiências entre os povos da Amazônia mato-grossense com manejo de produtos florestais não-madeireiros*, Projeto de Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade das Florestas do Noroeste de Mato Grosso Programa Integrado da Castanha - PIC, Cuiabá/MT, Defanti Editora, 2008, 42 p., 4,1 Mo.

BALONOV, M. Exposures from environmental radioactivity: international safety standards. *App. Radiation and Isotopes*, 66(11): 1546-1549. 2008.

BAYMAN, P., BAKER, J., MAHONEY, N. *Aspergillus* on tree nuts, *Mycopathologia*. v. 155, p.161-169, 2002.

BEZERRA, V. S. *As toxinas nos alimentos*. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2005/artigo.2005-06-14.3711997257>>. Acesso em 03 de Julho de 2009.

BODÓ, E. T.; STEFÁNKA, Z.; IPOLYI, I.; SÖRÖS, C.; DERMOVICS, M.; FODOR, P. Preparation, homogeneity and stability studies of a candidate LRM for Se speciation. *Anal. Bioanal Chem.*, 377, 32-38. 2003.

BRASIL. Decreto nº 51.209, de 18/08/1961. *Aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização da exportação da Castanha-do-Brasil*. Brasília/DF: Diário Oficial de Brasília, p.853-855. 1961.

BRASIL. Ministério do Interior. *Estudos e Pesquisas sobre a Castanha-do-Pará*. Belém/PA: SUDAM, p.97. 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. *Especificações para a padronização, classificação e comercialização interna da Castanha do Brasil*. Brasília/DF: v.08, nº19, Dez.1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Projeto de Monitoramento da Castanha do Brasil. Relatório de Atividades. 2002*. Brasília/DF: 2002. p.110.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 10, de 31 de Julho de 2003. *Diário Oficial da União*. Seção 1, 04 de Agosto de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa - nº12, de 27 de Maio de 2004. Brasília/DF: *Diário Oficial da União*. Seção 1, 28 de Maio de 2004.

BULLERMAN, L.B.; SCHROEDER, L.L.; PARK, K.Y. Formation and control of mycotoxins in food. *J. Food Prot.*, v.47, n.8, p.637-646, 1984.

BULL, R.K.; SMITH, T.J.; PHIPPS, A.W. Unexpectedly high activity of ²²⁸Th in excretion samples following consumption of Brazil nuts. *Rad. Protec. Dosimetry*, v.121, n.04, p.425-428, 2006.

CALDAS, E.D.; SILVA, S.C.; OLIVEIRA, J.N. Aflatoxins and ochratoxin A in food and the risk to human health. *Rev. De Saúde Pública*. v. 36, n.3. São Paulo: USP, p.319-323. 2002.

CAMARGO, I. P.; CASTRO, E.; GAVILANES, M. L. *Aspectos da anatomia e morfologia de amêndoas e plântulas de castanheira-do-Brasil*. *CERNE*, v.6, n.2, p.011-018, 2000.

- CAMPO/PAS, *Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da castanha do Brasil*. Série Qualidade e Segurança dos Alimentos. Brasília, DF: Campo PAS, 2004.
- CANDLISH, A. et al. A survey of ethnic foods microbial quality and aflatoxin content. *Food Addit. And Contaminants*, v.18, n.2, p.129-136, 2001.
- CARDARELLI, H. R.; OLIVEIRA, A. J. Conservação do leite de Castanha-do-Brasil. *Sci. Agríc.*, v.57, p. 617- 622, 2000.
- CARTAXO, C. et al. *Occurrence of aflatoxin and filamentous fungi contamination in Brazil-nuts left inside the forest*. Sem. Cient. Int. de Salud Animal. Havana/CU, B56, abstracts, 2004.
- CASTRILLÓN, A.L.; PURCHIO, A. Fungos e produtores de aflatoxinas em castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa* Humb & Bonpl 1808). *Acta Amazonica*, 18(3-4):173-183,1988.
- CASTRILLON, A.L. *Ocorrência de aflatoxinas e de fungos produtores em Castanha-do-Pará Bertholletia excelsa Humb. & Bonpl., 1808*. Dissertação (Doutorado), USP, São Paulo, 1984.
- CAVALIERE, et al., Aflatoxin M1 determination in cheese by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. of Chromatography A*, 1135, p.135-141, 2006.
- CELIK, N.; CEVIK, U.; CELIK, A.; KUCUKOMEROGLU, B. Determination of indoor radon and soil radioactivity levels in Giresin, Turkey. *J. of Env. Radioactivity*, 99(8): 1349-1354. 2008.
- CHAVES, N. (2007). *Cultivo da Castanha-do-Brasil*. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília – CDT/UnB, 22p.
- CHUNHIENG, T. et al. Study of selenium in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. *J. of Agric. Food Chem.* 52, p.4318-4322, 2004.
- CODEX ALIMENTARIUS. *Code of practice for the prevention and reduction of aflatoxin contamination in tree nuts*. CAC/RCP 59-2005, Rev. 1-2006, 2006.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim técnico. *Subsídios para as operações de castanha do Brasil no programa de aquisição de alimentos*. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conabweb/download/sureg/pa/subsidios_para_operacoes_de_castanha_do_para. Acesso em: 30 de junho de 2009.
- COSTA, S. et al, Production of *Pseudomonas aeruginosa* LBI rhamnolipids following growth on Brazilian native oils. *Process Biochemistry*, v.41, p.483-488, 2006.
- COZZOLINO, S.M.F. *Usos e aplicações das dietary reference intake*. DRIs. ILSI BRASIL. São Paulo/SP: Novembro, 2001.

CREPPY, E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, v. 127, p. 19-28, 2002.

DA GLÓRIA, E.M. et al. *Segregação da contaminação com aflatoxina durante a classificação das amêndoas de castanha-do-Brasil*. In: V Congresso Latino-americano de Micologia. P.155, 2006.

DA SILVA, J. O. *Ocorrência de aflatoxina B₁ em arroz consumido por militares do exército brasileiro por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência*. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Curitiba/PR:Universidade Federal do Paraná, 101p. 2005.

DA SILVA, R.A.; CHALFOUN, S.M.; DA SILVA, M.A.M.; PEREIRA, M.C. Inquérito sobre o consumo de alimentos possíveis de contaminação por micotoxinas na ingesta alimentar de escolares da cidade de Lavras, MG. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 2, p. 439-447, mar./abr., 2007.

DA SILVEIRA, P. B. *Determinação de ²³⁸U, ²²⁶Ra, ²²⁸Ra e ⁴⁰K em uvas e vinhos do Vale do São Francisco*. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2007.

DUMONT, E., DePAUW, L., VANHAECKE, F., COMELIS, R., Speciation of Se in *Bertholletia excelsa* (Brazil nut): a hard nut to crack? *Food chemistry*, v.95, n. 4, p. 684-692, 2006.

EMBRAPA. *Castanha: Produtos Potenciais da Amazônia*, v.19, Brasília/DF: MMA, p.79, 1998.

EMBRAPA. *Cultivo da Castanha-do-Brasil em Rondônia*. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Castanha/CultivodaCastanadoBrasilRO/index.htm>. Acesso em: 30 de junho de 2009a.

EMBRAPA. Segurança e qualidade para a cultura da Castanha-do-Brasil. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2004/junho/bn.2004-11-25.1264185701/>. Acesso em: 21 de Julho de 2009b.

EU - European Union. Commission Regulation 1525/98 of 16 July 1998, amending Regulation (EC) N. 194/97 of January 1997 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuff. *Official Journal of European Communities*.1998.

EU- EUROPEAN UNION. Commission Decision of 4 July 2003, imposing special conditions on the import of Brazil nuts in shell originating in or consigned from Brazil (2003/493/EC). *Official Journal of the European Union*. 5.7.2003, L 168/33, 2003.

FAO/WHO/UNU. Expert consultation energy protein requirements: FAO/WHO nutrition meetings, Geneva: Food and Agriculture Organization / World Health Organization, Report series 724, 1985.

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [JECFA]. Safety evaluation of certain food additives and contaminants – Aflatoxins. Geneva: World Health Organization; 1998.

FELBERG, I; DELIZA, R; GONÇALVES, E.B; ANTONIASSI, R. Bebida mista de extrato de soja integral e castanha-do-Brasil: caracterização físico-química, nutricional e aceitabilidade do consumidor. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 163-174, 2004.

FIRESTONE, R. B. Table of Isotopes. John Wiley, New York, 1999.

FREIRE, F.C.O.; KOZAKIEWICZ, Z.; PATERSON, R.M. Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts. *Mycopathologia*, n.149, p.13-19, 2000.

FREIRE, F.; OFFORD, L. Bacterial and yeast counts in Brazilian commodities and apices. *Braz. J. Microbiol.* v.33, n.2, São Paulo/SP, Apr/Ju, 2002.

FURR, K. A. et al. Elemental Composition of tree nuts. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, v.21, p. 392-396, 1979.

GABAY, J.; SAX, J. J. Retention of Radium due to Ingestion of Brazil nuts. *Health Physics*. Pergamon Press. v.16. p.812-813. 1969.

GIORDANO, B. N. E. *Efeito do ozônio na contaminação por fungos e aflatoxinas na armazenagem de castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa H.B.K.)*. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos). Florianópolis/SC: Universidade Federal de Santa Catarina, 183p. 2009.

GONZAGA, I. *Avaliação nutricional relativa ao selênio em crianças com dieta enriquecida de castanha-do-brasil (Bertholletia excelsa, H. B. K.)*. São Paulo: USP, 2002.

HAAS, P. *Exposição da população a aflatoxina B1 e ocorrência de carcinoma hepatocelular nos estados de São Paulo e Santa Catarina*. 2000. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

HARRIS, A.J. Biomarkers of hepatotoxicity, Hepatotoxicity from genomics to in vitro and in vivo models, 177-188.2007.

HARRIS, C.C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. *Cancer Research*, v.51, p. 5023-44, 1991.

HERNÁNDEZ, F.; HERNÁNDEZ-ARMAS, J.; CATALÁN, A.; FERNANDEZ-ALDECOA, J. C. E LANDERAS M. I. Activity Concentrations and Mean Annual Effective Dose of Foodstuffs on the Island of Tenerife, Spain. *Rad. Prot. Dosimetry*. Vol. 111 (2), p. 205-210, 2004.

HIROMOTO, G., OLIVEIRA, J., CARVALHO, J. S., VICENTE, R. & BELLINTANI, S. A. Collective dose and risk assessment from Brazil nut consumption. *Radiation Protection Dosimetry*, 67 (3), 229-230. 1996.

- HOLBEN, D.; SMITH, A. M. The diverse role of selenium within selenoprotein: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, Philadelphia, v. 99, n. 7, p. 839-843, 1999.
- HUSSEIN, S. H.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, Ireland, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.
- IARC - INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER. Evaluation of carcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances: aromatic amines and mycotoxins. Lyon. p. 245-395. (IARC Monographs, 56). 1997.
- IOANNOU-KAKOURI. Surveillance and control of aflatoxins B1, B2, G1, G2 and M1 foodstuffs in Republic of Cyprus: 1992-1996. *Food and Chem. Contaminants*, v.82, n.04, p.883-892, 1999.
- IRIGARAY, P.; MEWBY, J.A.; CLAPP, R.; HARDELL, L.; HOWARD, V.; MONTAGNIER, L.; EPSTEIN, S.; BELPOMME, D. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomed. & Pharmacotherapy*, 61(10): 640-658. 2007.
- JAIMEZ, J. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. *Journal of Chromatography A*, v.882, p.1-10, 2000.
- JOLLY, P. et al., Determinants of aflatoxin levels in Ghnaians: Socio demographic factors, knowledge of aflatoxin and food handling and consumption practices. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 209, p.345-358. 2006.
- KAINER, K. et al. Liana loads and their association with *Bertholletia excelsa* fruit and nut production, diameter growth and crown attributes. *J. of Tropical Ecology*, 22, p.147-154, 2006.
- KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. Fungal secondary metabolism-from biochemistry to genomics. *Nature reviews*, v.3, p. 937-947, 2005.
- KERSHAW, S.J. Aflatoxin in imported edible nuts: some data 1982-84. *J. of Food Technology*, 20, p.647-649, 1985.
- KOCYIGIT, A., A.A. KOYLU, H. KELES, 2006. *Effects of pistachio nuts consumption on plasma lipid profile and oxidative status in healthy volunteers*. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 16:202-9.
- LAURIA, D.C.; RIBEIRO, F.C.; ALLELUIA, I. B.; PEREZ, D. O fertilizante e o rádio na cultura do tomate. In: XXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2001, Londrina. *Ciência do Solo: fator de produtividade competitiva com sustentabilidade*, p. 311, 2001.
- LIRA, M.H. High incidence of aflatoxigenic fungi in Brazil nut. *Fitopatologia*, 11:21 resumo. 1976.

- LORINI, I. *Armazenagem de Grãos*. 1ªed. Campinas/SP: IBG, 2002. 1.000p.
- LU, et al. 2007. Aflatoxin exposure and hepatitis C virus in advanced liver disease in a hepatitis C virus- Endemic area in Taiwan. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 77(4): 747-752, 2007.
- MALANCA, A. et al. Radioactivity in Brazilian manioc-root flour. *Radiation Protection Dosimetry*, v. 92, n. 4, p. 329-334, 2000.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Cartilha do produtor. Prevenção de aflatoxinas em castanha-do-Brasil*. Brasília, 2002.
- MARKLINDER, I. et al. Consumer's ability to discriminate aflatoxin-contaminated Brazil nuts. *Food Addi. and Contaminants*, 22, p. 56-64. 2005.
- MARTINS, H.; MARTINS, M.; BERNARDO, F. Interaction of strains of non-toxigenic *Aspergillus flavus* with *Aspergillus parasiticus* on aflatoxin production. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v.37, nº6, 2000.
- MCLEAN, M.; DUTTON, M. F. Cellula interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmacology and therapeutics*, London, v. 65, n. 2, p. 163-192, 1995.
- MELQUIADES, F.L.; APPOLONI, C.R. 40K, 137Cs and 232Th activities in brazilian milk samples measured by gamma ray spectrometry. *Indian Journal of Pure and Applied Physics*. v. 40, p. 5-11, 2002.
- MENNINGER, E.A.. Edible nuts of the world. *Brazil nut family*. 174p. 1977.
- MOODLEY, R.; ANDREW, K.; JONNALAGADDA, S. B. 'Elemental composition and chemical characteristics of five edible nuts (almond, Brazil, pecan, macadamia and walnut) consumed in Southern Africa', *J. of Environ. Sci. and Health*. Part B, 42 (5), 585 – 591. 2007.
- MORALES, D.; FLORES, S. *Detection de la contamination com aflatoxina B1 y G1 em lãs diferentes etapas de production de la castana (Bertholletia excelssa)*. In: II Congresso Latino Americano de Micotoxicologia. Maracay, Venezuela, July 14-18, p.98, 1997.
- NAGASHIRO, C.W. et al. Chemical composition, digestibility and aflatoxin content of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) cake produced in North-eastern Bolívia. *Livest. Res. for Rural development*, 13, 2001.
- OLIVEIRA, C. A. F e GERMANO P. M. L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. *Revista Saúde Pública*, v.31, n.4, p.417-424, ago., 1997.
- PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. *Castanha-do-Brasil: da floresta tropical ao consumidor*. Florianópolis: Editorgraf, 2006. 176 p.

PACHECO, A.M. Florianópolis. *Selênio e aflatoxinas em castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa H.B.K) e qualidade de produtos derivados*. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Florianópolis/SC: a – Universidade Federal de Santa Catarina, 144p. 2007.

PACHECO, A.M. *Ocorrência de aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2) na análise de perigos e pontos críticos de controle em três etapas da cadeia produtiva da castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa H.B.K.) na safra de 2002*. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Manaus/AM: Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Amazonas, 87p. 2003.

PACHECO, A.M.; SCUSSEL, V.M. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the Eastern and Western Amazon basin. *J. Agric. Food.* 55(26): 11087-11092, 2007.

PACHECO et al. Detecção de aflatoxinas em Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) na safra de 2005. *Revista Analytica*, Abril/Maio N.22, p. 64-65, 2006.

PÁDUA, I. P. M.; SILVEIRA I. A.; MARTINS, C. E. C. B. Aflatoxinas e risco de contaminação do leite humano. *Pro Homine*, v. 1, n. 1, 2002

PAPACHRISTODOULOU, C.A.; ASSIMAKOPOULOS, P. A.; PATRONIS, N. E.; IOANNIDES, K. G. Use of HPGe γ -ray spectrometry to assess the isotopic composition of uranium in soil. *Journal of Environmental Radioactivity*. V. 64, p. 195-203, 2003.

PAREKH, P.P., KHAN, A.R., TORRES, M.A., KITTO, M.E. Concentrations of selenium, barium, and radium in Brazil nuts. *J. of Food Compd. Anal.* 21, 332–335. 2008.

PATERSON, R.; RUSSELL, M. Fungi and fungal toxins as weapons. *Myvological Research*, v.110, n.9, p.1003-1010, September, 2006.

PELLETIER, M.J.; REIZNER, J.R. Comparison of fluorescence sorting and color sorting for the removal of aflatoxin from large groups of peanuts. *Peanut Science*, v.19, n.1, p.15-20. 1992.

PERES, C. et al. Demographic threats to the sustainability of Brazil Nut exploitation. *Science*. v. 302. p.2112-2114, 2003.

PHILLIPS, T.D. et al. reducing human exposure to aflatoxin through the use of clay: a review. *Food addit.and contaminants*, 25(2):134-145, 2008.

PIETRZAK-FLIS, Z.; ROSIAK, L.; SUPLINSKA, M. M.; CHRZANOWSKI, E.; DEMBINSKA, S. Daily intakes of ^{238}U , ^{234}U , ^{232}Th , ^{230}Th , ^{228}Th and ^{226}Ra in the adult population of central Poland. *The Science of The Total Environment* Volume 273, Issues 1-3, p. 163-169, 12 June 2001.

PORTELA, A. C. *Impactos de barreiras não tarifárias na exportação de Castanha-do-Brasil*. Monografia de conclusão de curso. FCA/UFAM. 2002, 35p.

RODRIGUES, J.E.; ARAÚJO, M.E.; AZEVEDO, F.F.M.; MACHADO, N.T. Phase equilibrium measurements of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) oil supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, v.34, p.223-229, 2005.

RODUSHKIN, B.; ENGSTRÖM, E.; SÖRLIN, D.; BAXTER, D. Levels of inorganic constituents in raw nuts and seeds on the Swedish market. *Sci. of the Total Environ.* 392, 290-304. 2008.

ROSA, M. F. A. P. *Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de aflatoxina B1, aflatoxicol MI e aflatoxicol por Cromatografia por camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência em amostras de patê de fígado industrializado*. 1995. 60 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1995.

RYAN, E. et al. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of Brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. *Int. J. of Food Sci. and Nutrition*, 57, p.219-228, 2006.

SABINO, M. *Micotoxinas em Alimentos*. In: OGA, S.(ed) Fundamentos de Toxicologia. São Paulo: Atheneu Editora, 461-472, 1996.

SANTOS, E. E. *Radionuclídeos naturais e metais pesados em vegetais da dieta da população da cidade do Rio de Janeiro*. 2002. 133p. Tese (Doutorado em Ciências Nucleares), Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2002.

SCHEIBEL, V., APPOLONI, C. R. *Traços radioativos em amostras alimentares de exportação do Paraná*. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Londrina – UEL. 2002.

SCUSSEL, V. M. *Micotoxinas em alimentos*. Florianópolis/SC: Editora Insular, 1998.

SCUSSEL, V.M. *Fungos e micotoxinas associados a grãos armazenados*. In: Lorini, I. Armazenamem de grãos, Campinas, IBG. Seção 9, 2002.

SCUSSEL, V.M. Aflatoxin and food safety: Recent South American Perspectives. *J. of Toxicology. Toxin Reviews*, 23:179-216. 2004.

SHIRAISHI, K.; IGARASHI, Y.; TAKAKU, Y.; MASUDA, K.; YOSHIMIZU, K.; NISHIMURA, Y.; HONGO, S.; YAMAGUCHI, H. Daily intakes of ²³²Th and ²³⁸U in Japanese Males. *Health Physics Society*. v. 63, n. 2, p. 187-191, 1992.

SHIRAISHI, K. Dietary of Eighteen Elements and ⁴⁰K in Eighteen Food Categories by Japanese Subjects. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. Vol. 266 (1), p. 61-69, 2005.

SILVA, F.A.; MARSAIOLI, A. Jr., Atividade de água em amêndoas de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) secas por microondas e convencionalmente. *Rev. Cienc. Exatas e Naturais*, vol. 5, n.1, 2003.

SMITH, K. A. The Comparative Uptake and Translocation by Plants of Calcium, Strontium, Barium, and Radium. *Plant and Soil*. 34:369-379; 1971.

SIMÕES, A. V. *Impactos de tecnologias alternativas e do manejo da Castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa, Humb. & Bonpl., 1808) no controle da contaminação por aflatoxinas em sua cadeia produtiva*. Dissertação (mestrado em Ciências Agrárias). Manaus/AM: Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, 62p. 2004.

SOLIS, V. E.S. *Modificações no óleo da castanha do Pará*. Tese (Doutorado em tecnologia de alimentos). São Paulo: Universidade de São Paulo, 2001. 105p.

SOUZA, M. L. de. *Processamento de cereais matinais extrusados de castanha-do-brasil com mandioca*. Campinas. 2003. 191 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

SOUZA, M. L; MENEZES, H. C. Processamento de amêndoa e torta de Castanha do Brasil e Farinha de Mandioca: parâmetros de qualidade - *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas/SP: v. 24, nº01, 2004.

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

SOUZA, M. L.; MENEZES, H. C. Otimização do processo de extrusão termoplástica da mistura castanha do Brasil com farinha de mandioca. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(3): 659-667, jul.-set. 2008b.

STEINER, W.E. et al, Aflatoxins and fluorescence in Brazil nuts and Pistachio nuts. *J. of Agric. and Food Chem.* 40, p.2453-2457, 1992.

TEIXEIRA, A.S. *Adequação e apresentação de parâmetros de validação intralaboratorial de um ensaio para a quantificação de aflatoxinas em Castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa H.B.K) através de cromatografia líquida de alta eficiência*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. 57p, 2008.

THOMSON, C.D. et al. Brazil Nuts: an effective way to improve selenium. *Am. J. Clin. Nutr.*, 87, p. 379-384. 2008.

THUVANDER, A. et al Dietary intake of some important mycotoxins by the Swedish population. *Food Addit. and Contaminants*. V.18, n.8, p.696-706.2001.

TOADER, M. ²²⁶Ra Dans les aliments. *Romanian J. Biophys.* v. 3, n. 2, p. 107-111, 1993.

TONINI, H; COSTA, P. da; KAMINSKI, P. E. Estrutura e produção de duas populações nativas de castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* O. Berg) em Roraima. *FLORESTA*, Curitiba, PR, v. 38, n. 3, jul./set. 2008a.

TONINI, H; KAMINSKI, P. E.; COSTA, P. da. Relação da produção de sementes de castanha-do-brasil com características morfométricas da copa e índices de competição. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.43, n.11, p.1509-1516, nov. 2008b.

TURNER, et al. The naturally occurring alpha activity of foods. *Health Physics*, 1, p.268-275, 1958.

TURNER, P.C.; COLLINSON, A.C.; Cheung, Y.B.; Gong, Y; Hall, A.J.; Prentice, A. M.; Wild, C.P. Aflatoxin exposure in utero causes growth faltering in Gambian infants. *Int. J. Epidemiol.*, 36(5): 1119 - 1125. 2007.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S.K. Chemical composition of selected edible nut seeds. *J. of Agric. Food Chem.* v. 54, p.4705-4714, 2006.

VENTURINE, L.; SORDI, G. A. A. Radioactivity in and committed effective dose from some Brazilian foodstuffs. *Health Physics Society*, 1999.

VILELA, P. Castanha-do-brasil. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/setor/fruticultura/o-setor/frutas/castanha-do-brasil>> Acesso em 31 de agosto de 2009.

XAVIER, J.J.M.; SCUSSEL, V. M. Development of methodology by LC MS/MS for aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ in Brazil nuts for export. *Int. J. of Environ. Chem.* In press.

ZOLLNER, P.; MAYER-HELM B. Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography.atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *J. of Chromatography A*, 1136, p. 123-169, 2006.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. *Food Sci. and Technol.* 42, 1573–1580. 2009.

3. ARTIGO

CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa*): ELEMENTOS NATURAIS E CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS

CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa*): ELEMENTOS NATURAIS E CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS

3.1 RESUMO

Considerando a ambigüidade da ação do selênio, benéfica ou tóxica, a carcinogenicidade das aflatoxinas e a associação entre a ingestão de alimentos radioativos, amostras de castanha-do-Brasil sem casca, tipo exportação, classificadas em diferentes tamanhos, foram avaliadas com o objetivo de estudar a associação dos níveis de radioatividade, selênio (Se) e aflatoxinas. A análise de Se foi realizada com ICP, espectrometria de emissão óptica- OES (LOQ=3,0 µg/g). A análise de aflatoxinas por LC/MSMS (LOQ=0,85 µg/kg), e a análise de radioatividade por espectrometria gama de alta resolução. O nível médio de Se foi 22,71 µg/g. A atividade média do ^{224}Ra foi 15,77 Bq/kg, do ^{226}Ra 104,81 Bq/kg e do ^{228}Ra 99,48 Bq/kg. Os níveis de Se não apresentaram diferença significativa entre os diferentes tamanhos, assim como o ^{226}Ra . Já o ^{224}Ra e o ^{228}Ra apresentaram diferenças entre os tamanhos. Não houve associação estatística significativa entre o nível de Se e a atividade dos radionuclídeos, no entanto, houve correlação com os radionuclídeos entre si. Nenhuma amostra apresentou contaminação por aflatoxinas. Todas as doses efetivas comprometidas calculadas para os radionuclídeos estão abaixo do limite máximo estabelecido.

Palavras-chave: radioatividade, selênio, *Bertholletia excelsa*, aflatoxinas.

3.2 INTRODUÇÃO

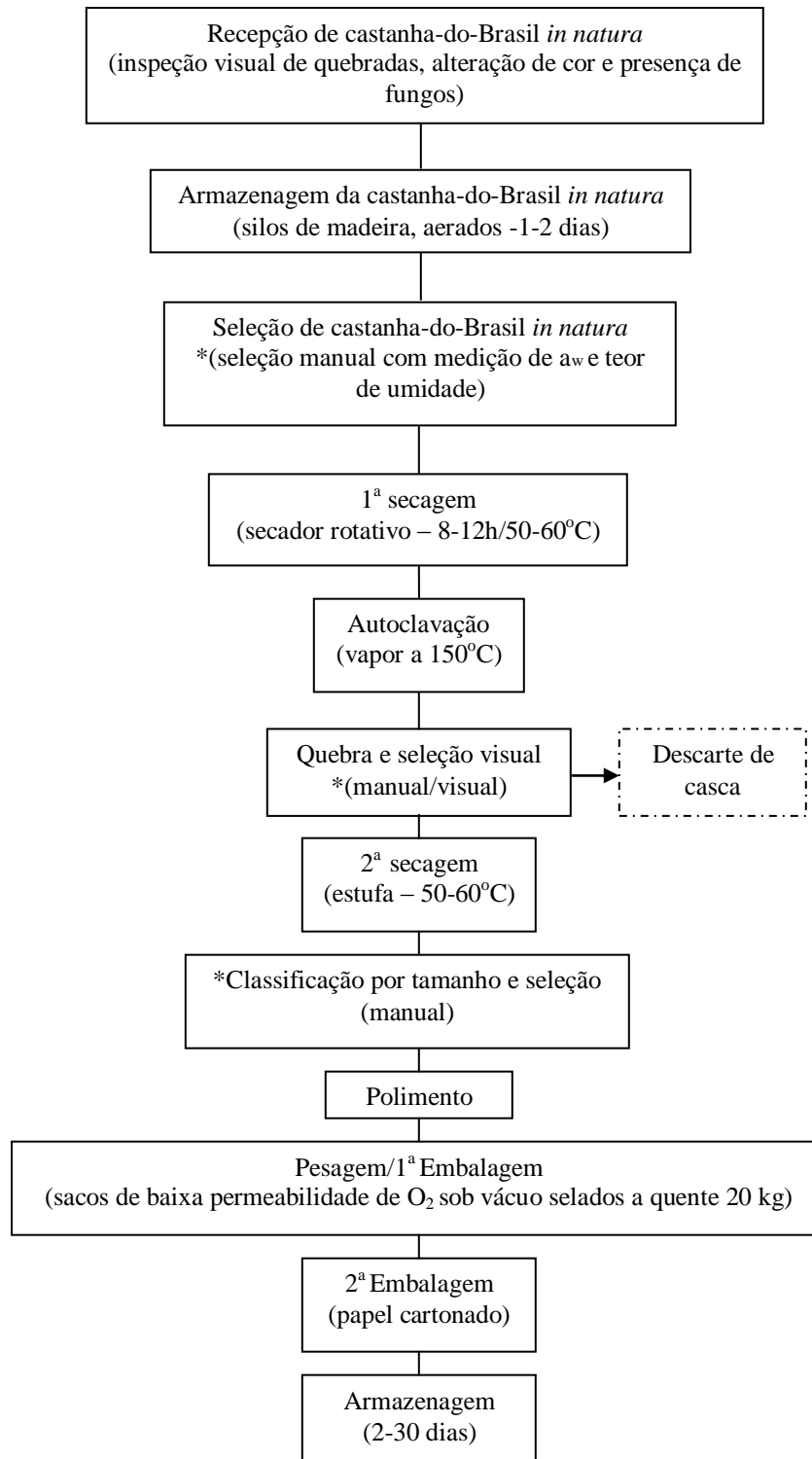
A contaminação por fungos e seus metabólitos em alimentos tem sido foco na ciência de alimentos para identificar riscos e prevenir doenças. Entretanto, as propriedades naturais de alguns alimentos, como a radioatividade e seus elementos químicos também tem sido avaliados por ser inerente a sua constituição, como por exemplo, em nozes de árvores, como a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K).

Alimento com relevantes propriedades nutricionais, a castanha-do-Brasil possui elevado teor de proteínas (de 15 a 20%) com aminoácidos sulfurados, de 60 a 70 % de lipídios (ácidos graxos essenciais) e vitamina E (1,2), além de reconhecidas propriedades antioxidantes devido ao teor de Selênio (Se) (3). O Se é um micronutriente essencial que, uma vez incorporado às selenoproteínas, exerce importantes funções no organismo, participando da defesa antioxidante, do sistema imune e da regulação da função tireoidiana (4). A glutathione peroxidase é uma selenoproteína que atua como enzima antioxidante no plasma que está associada a retardar o processo de envelhecimento, estimular o sistema imunológico e proteger o organismo contra doenças do coração e certas formas de câncer (5). Por outro lado em doses acima da ingestão diária recomendada de 55ug/kg o Se pode ter efeito tóxico (5). O Se é um elemento natural absorvido do solo pela árvore de castanha-do-Brasil (6), o mesmo acontece com radionuclídeos como o ^{226}Ra (7,8).

A concentração de elementos radioativos da castanha-do-Brasil pode chegar à quantidade até 1000 vezes maior que outros alimentos (9). Devido à larga concentração de Bário e Rádio diversos estudos relatam a castanha-do-Brasil como o alimento mais radioativo, quando comparado a outras nozes (10,11). A ocorrência de câncer está dentre os riscos associados à ingestão de alimentos radioativos, e o monitoramento é uma forma de proteção à saúde (12-14).

A castanha-do-Brasil é nativa da região Amazônica e economicamente importante, como um produto de exportação. É coletada em regiões indígenas ou pequenas comunidades, na época de chuva, e transportada para usinas de beneficiamento, para serem submetidas a tratamentos que envolvem etapas de segregação, secagem, quebra e classificação por tamanhos (15). Na etapa de segregação visual manual há eliminação de castanhas, mofadas e manchadas, de forma a preceder a classificação por tamanhos. Ao final do processo de secagem e resfriamento, o produto ainda é submetido à embalagem a vácuo e selagem quente (Figura 1) (16).

Figura 1 - Fluxograma de beneficiamento da castanha-do-Brasil sem casca [*] etapas de seleção (Pacheco et al., 2009).



Além de exportada a amêndoa é utilizada como ingrediente na fabricação de produtos industrializados, como biscoitos, óleo, doces, cereais e produtos de panificação (17,18). Entretanto, apesar do Brasil ter exportado cerca de 23.600 toneladas do produto acabado em 2008/2009 (19), o volume de exportação para Europa sofreu drástica redução devido à presença de aflatoxinas em concentrações superiores às exigidas pela legislação Européia que era de 4 ug/kg para aflatoxina total (20).

As aflatoxinas, por sua vez, são substâncias carcinogênicas (21) provenientes do metabolismo secundário de fungos aflatoxigênicos. Nozes de árvores, como a castanha-do-Brasil têm sido estudadas quanto à associação com esses fungos (22) e quanto aos níveis de contaminação por aflatoxinas (23-25). A produção da castanha-do-Brasil ocorre em ambiente com temperatura (30-35°C) e umidade relativa elevada (80-95%) na região Amazônica que favorecem a produção de aflatoxina pelo fungo, relacionada também com o teor de atividade de água e umidade da amêndoa (26).

Considerando estes aspectos, este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a associação dos níveis de radioatividade, Se e a contaminação por aflatoxinas em castanha-do-Brasil tipo exportação.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

Material

Amostras: Foram avaliadas castanhas classificadas em diferentes tamanhos, sem casca, tipo exportação, da safra de 2009.

Reagentes: metanol, acetonitrila, benzeno (grau HPLC), Carlo Erba – Rodano, Itália. Água ultrapura (sistema MilliQ, Millipore – Billerica, USA). Acetato de amônia (PA), Vetc – Rio de Janeiro, Brasil. Padrões de Aflatoxinas: AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, Sigma (Saint Louis, USA).

Equipamentos: cromatógrafo líquido, modelo 1100, Agilent (Santa Clara, USA) com bomba quaternária, desgaseificador, injetor automático ajustado para um volume de 20µl. Colunas de fase reversa estudadas: três C18 [(4.5 mm), 150 (5µm) marca Hichrom (Theale, UK) e 250 mm (5 e 10µm)] marca Phenomenex (Torrance, USA) e uma C18 [4.6 x 150mm (5 µm)] marca Agilent (Santa Clara, USA). Espectrômetro de massa/massa, API 4000 triplo-quadrupolo, Applied Biosystems® MDS SCIEX (Foster City, USA), equipado com fontes de ionização APCI e ESI nos modos positivos e negativos e bomba de infusão marca Harvard Apparatus (Holliston, USA). Espectrofotômetro, U2010 Hitachi (Tóquio, Japão). Moinho Romer (Union, USA). Quebrador de nozes industrial da Ciex (Manaus, Brasil). Detector de HPGe, modelo GEM-M 7080-P-S (ORTEC), fonte de alta tensão, modelo ORTEC 659; gerador de pulsos, modelo ORTEC 419; pré-amplificador; amplificador linear, modelo ORTEC 575; osciloscópio, modelo Tektronic TDS 220; placa multicanal, modelo ORTEC Trump-8K; blindagem ORTEC, modelo HPLDS1.

Métodos

Amostragem: O método de amostragem utilizado foi o exigido pela União Européia (20). Um total de 30 amostras foi coletado de lotes de castanha-do-Brasil tipo exportação, da safra de 2009, em uma fábrica de castanha-do-Brasil, Manaus-AM. As amostras foram coletadas representativamente de sacos mantidos em vácuo / selagem de 20 kg.

A preparação da amostra: Cada incremento de amostra foi retirado dos sacos, homogeneizado e porções finais de 1 kg foram embaladas e enviadas imediatamente para o laboratório (considerado representativo para <0,1 tonelada). As amostras, ainda congeladas, foram finamente moídas (tamanho de partícula <100 µm) em moinho de disco, homogeneizadas, e porções de 500 g transferidas para recipientes de polietileno com tampa e armazenadas em um freezer. Porções de 50 e 25 g foram utilizadas para análise de aflatoxina e Se, em duplicata. Para a análise de radioatividade, as amostras (porções finais de 1,8 kg) incineradas conforme AOAC (27) foram devidamente acondicionadas (de modo que preenchessem 2 cm de altura do recipiente – aproximadamente 50 g de amostra) em recipientes plásticos e cilíndricos com volume de 300 ml. Após o acondicionamento, as amostras foram lacradas e permaneceram em repouso por um período de 40 dias a fim de atingir o equilíbrio secular.

Análise de selênio: A análise de selênio foi realizada com ICP, espectrometria de emissão óptica (OES), utilizando o método de emissão atômica (28). A digestão das amostras (0,4 g) foi realizada com 5 mL de HNO₃ concentrado. O limite de detecção (LOD) foi de 1,50 µg/g, e o limite de quantificação (LOQ) foi de 3,00 µg/g. O LOQ foi definido como o ponto mais baixo da curva de calibração com alta repetibilidade, vista axial. O nível de recuperação foi 90% (n=3).

Análise de aflatoxinas por LC-MS/MS: As análises foram realizadas segundo o método de Xavier e Scussel (29) com *Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)*, no modo positivo, em condições de: coluna C8, fluxo na proporção de 1 mL/min e fase móvel de metanol:água (5 min). Cinco pontos foram usados para construir a curva analítica e obtenção dos valores de coeficiente de correlação (R). Os limites de detecção (LD) e de Quantificação (LQ) para ΣAFLs foram: 0,3 e 0,85 µg/kg, respectivamente.

Análise de Radioatividade por Espectrometria de Raios Gama: Os traços radioativos dos radionuclídeos ²²⁸Ra, ²²⁶Ra e ²²⁴Ra foram medidos por espectrometria gama, empregando-se um detector HPGe modelo GEM-M 7080-P-S, ORTEC, de 66% de eficiência relativa. Cada amostra de castanha foi medida no detector de HPGe durante 86400 segundos. A concentração de ²²⁸Ra foi determinada a partir das linhas 911, 338 e 969 keV do ²²⁸Ac em cada amostra. A concentração de ²²⁶Ra foi determinada a partir das linhas 609, 1120 e 1764,5 keV do ²¹⁴Pb e 352 e 295 keV do ²¹⁴Pb.

²¹⁴Pb. Depois, calculou-se a média das atividades de cada um destes dois radionuclídeos em todas as amostras e, subsequentemente, uma média ponderada pelos desvios destes dois valores foi determinada para chegar ao valor médio da atividade de ²²⁶Ra e ²²⁸Ra na castanha. A concentração de ²²⁴Ra foi determinada a partir das linhas 239 keV do ²¹²Pb e 583 keV do ²⁰⁸Tl. A atividade mínima detectável (AMD) para cada linha de energia está descrita na tabela 1.

Tabela 1 - Atividade Mínima Detectável (AMD) para cada linha de energia utilizada.

Radionuclídeos	Energia	AMD (Bq.kg-1)
²¹⁴ Bi ^a	609,3	14,7
	1120	47,7
	1764	34,2
²¹⁴ Pb ^b	351,93	18,2
	295	32,4
	338	57,2
²²⁸ Ac ^c	911,20	26,4
	969	49,1
	583	7,67
²⁰⁸ Tl ^d	583	7,67
²¹² Pb ^b	238	17,5

^aBi = Bismuto ^bPb = Chumbo ^cAc = Actínio ^dTl = Tálíio

Doses efetivas comprometidas: Os cálculos de dose por unidade de ingestão são providos pela Comissão Internacional de Proteção Radiológica – ICRP (30). A potencialidade do impacto radiológico através da ingestão de alimentos é avaliada a partir do cálculo da dose efetiva comprometida (DEC) em Sv.a⁻¹, dada pela equação: DEC = e(g) ATC em que: e(g) é a dose efetiva comprometida por unidade de ingestão, ou coeficiente de dose efetiva; A é a atividade média do radionuclídeo e Tc é a taxa de consumo anual do referido alimento. Os valores para o coeficiente de dose efetiva [e(g)] são baseados em modelos e dados metabólicos utilizados pela avaliação do Comitê Científico das Nações Unidas - UNSCEAR (31). Os referidos coeficientes de dose efetiva, de interesse para o presente trabalho, são definidos pela Agência Internacional de Energia Atômica - IAEA (32). Os valores da taxa de consumo anual (Tc) de castanha, para o Brasil utilizados neste estudo, foram os sugeridos pela Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) do

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (33), e também os sugeridos pela dieta Cluster do GEMs/Food (*Global Environmental Monitoring System*) (34).

Análises estatísticas: A comparação entre os tamanhos foi realizada através de análise de variâncias (ANOVA). Para as análises de correlação utilizou-se do coeficiente de Pearson. O teste t de Student e o teste Qui-quadrado foram utilizados para a comparação entre as doses comprometidas e o limite máximo estabelecido.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Selênio: Os níveis de Se variaram entre 9,4 e 39,0 $\mu\text{g/g} \pm 7,36$ (Tabela 2). Não houve diferenças significativas na concentração de selênio ($p > 0,18$) entre os diferentes tamanhos de castanha. Moodley et. al. (35) estudaram a concentração de Se em diferentes tipos de nozes de árvores comercializadas na África do Sul e relataram uma concentração de $36,1 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$ em castanha-do-Brasil, e $0,0039 \pm 0,0007 \mu\text{g/g}$ em Amêndoas, no entanto não detectaram níveis de Se para os demais tipos de nozes estudados. Em outro estudo foi relatado uma ampla variação para os níveis de Se entre os diferentes tipos de nozes avaliados com uma concentração relativamente baixa em castanha-do-Brasil sem casca ($1,2 \mu\text{g/g}$) (36). Os níveis de Se encontrados no presente estudo foram mais baixos que os relatados por Bodó et al. (37) de $82,9 \mu\text{g/g}$ e de Chunhieng et al. (38) com $126 \mu\text{g/g}$ em castanha sem casca. No entanto foram similares aos valores relatados por Parekh, et.al. (6), que descreveram que os níveis de selênio variaram inversamente proporcionais com a concentração de bário para as amostras estudadas. A concentração de Se em castanha-do-Brasil parece ser influenciada pela capacidade de absorção da árvore e pode variar de acordo com fatores provenientes da composição do solo de onde são originárias. Níveis de Se entre 8,0 e $69,7 \mu\text{g/g}$ em castanha-do-Brasil com e sem casca de diferentes regiões da Amazônia foram relatados por Pacheco e Scussel (39). No estudo os autores verificaram correlação entre os níveis de Se e aflatoxinas, e que quanto maior o nível de Se maior a contaminação por aflatoxinas. Considerando tal correlação, e que no presente estudo os níveis de Se estão significativamente mais baixo dos que os relatados por Pacheco e Scussel (39), pode ser possível explicar a não ocorrência de aflatoxinas nas amostras estudadas.

Embora o selênio constitua um elemento apreciado pela sua ação antioxidante, é também estudado devido à ambigüidade de sua ação, benéfica ou tóxica em organismos. Sua faixa terapêutica é considerada estreita e sua toxicidade está parcialmente relacionada à capacidade que alguns compostos contendo selênio têm de gerar radicais livres, por isso a sua ingestão deve ser monitorada. A ingestão diária recomendada (IDR) de selênio é de 55 µg/dia para adultos (40). Esta recomendação baseia-se na quantidade necessária para maximizar a síntese da selenoproteína glutathiona peroxidase (GPx), avaliada pelo platô na atividade da isoforma plasma desta enzima. O Nível Máximo de Ingestão Tolerável (UL) para adultos é de 400 µg/dia, baseado em selenosis, que é o efeito adverso (40). Estudos relatam que o consumo de cerca de 300 µg/dia de selênio pode ter efeitos tóxicos sobre o hormônio do crescimento, bem como na síntese de hormônios tireoidianos (41). Segundo Thomson et al. (42) para se obter os efeitos antioxidantes no organismo, o consumo de 2 castanhas (média de 100µg/dia) é suficiente. De acordo com o presente estudo, o consumo de 1 castanha (tamanho médio, sem casca, com a parte comestível igual a 4,6 g) (43) forneceria uma concentração de selênio na faixa de 43,2 a 179,4 µg/g, contemplando, assim, a IDR e a UL.

Tabela 2 – Concentração de selênio e atividade de radionuclídeos em castanha-do-Brasil sem casca de diferentes tamanhos da safra de 2009.

Tamanho	Selênio ^a (µg/g)			²²⁴ Ra ^b Bq/kg			²²⁶ Ra Bq/kg			²²⁸ Ra ^b Bq/kg		
	Média ^c	Amplitude	Desvio	Média ^c	Amplitude	Desvio	Média ^c	Amplitude	Desvio	Média ^c	Amplitude	Desvio
	22,71	9,40-39,00	7,36	15,77	11,21-21,79	3,18	104,81	78,67-134,49	14,49	99,48	81,67-136,10	16,15
Pequeno	24,20	17,00-39,00	7,33	18,14 ^d	11,95-21,79	3,76	111,10	78,62-134,49	19,55	113,53 ^d	82,80-136,10	19,06
Médio	24,70	16,00-37,00	7,63	13,69 ^e	11,21-17,14	2,05	103,92	87,52-129,36	14,08	93,61 ^{de}	84,06-112,78	9,18
Grande	19,24	9,40-27,00	6,51	15,49 ^{de}	12,22-18,02	1,75	99,40	93,25-106,99	4,31	91,29 ^e	81,67-106,44	7,82
P- valor ^f		0,1894 ^g			0,0140 ^h			0,3008 ^h			0,0149 ^h	

^aLOQ = 3,00 µg/g. ^b parâmetros em que a ANOVA rejeitou a hipótese nula. ^c Média da concentração de selênio e atividade do ²²⁴Ra, ²²⁶Ra e ²²⁸Ra. ^{d,e} letras diferentes representam médias com diferenças significativas (p<0,05). ^f p<0,05 indica estatística significativa. ^g Valor p obtido pelo teste de Fisher e ^h Valor p obtido pelo teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 3. Comparação da dose efetiva comprometida para os radionuclídeos ²²⁴Ra, ²²⁶Ra e ²²⁸Ra em castanha do Brasil sem casca com base em diferentes taxas de consumo anual.

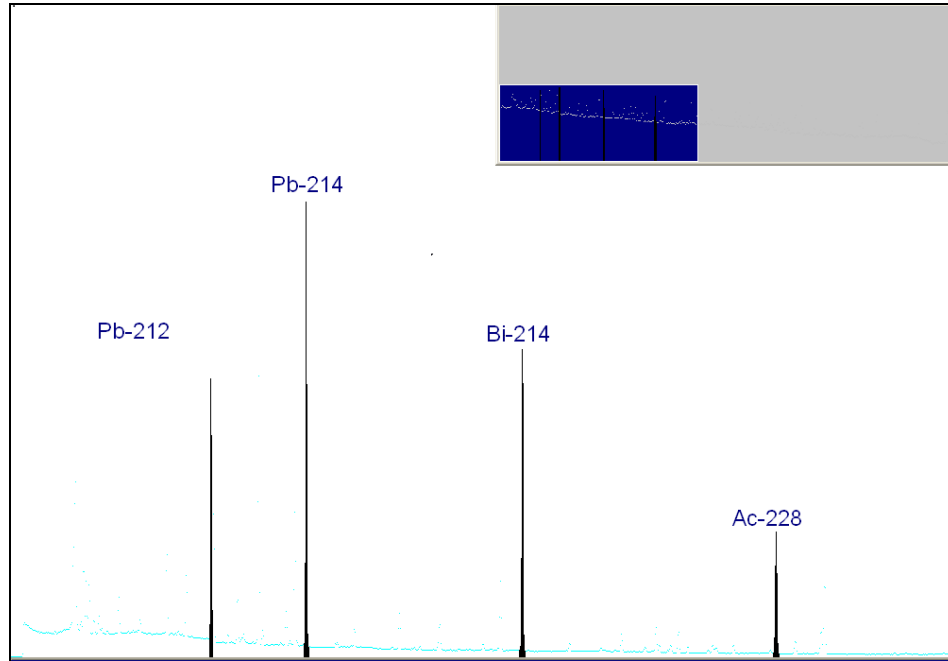
Radionuclídeos	Dec(Sv.a-1) ^c	IBGE ^a			WHO ^b		
		$\bar{x} \pm SD$ ^d	Amplitude ^e	P ^f	$\bar{x} \pm SD$ ^d	Amplitude	P ^f
²²⁴ Ra	0,22	0,06 ± 0,01	0,04-0,08	< 0,0001	0,05 ± 0,01	0,03-0,06	< 0,0001
²²⁶ Ra	6,30	1,50 ± 0,21	1,12-1,92	< 0,0001	1,07 ± 0,15	0,80-1,37	< 0,0001
²²⁸ Ra	11,00	3,50 ± 0,57	2,87-4,79	< 0,0001	2,51 ± 0,41	2,06-3,43	< 0,0001

^a Taxas de consumo anual conforme Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística ^b Taxas de consumo anual conforme Organização Mundial de Saúde ^c Limite máximo para dose efetiva comprometida por ingestão estabelecido pela UNSCEAR (2000). ^d Média da dose efetiva comprometida ±desvio padrão. ^e Amplitude das doses efetivas comprometidas. ^f Valor p obtido por meio do teste t de Student.

Aflatoxinas: Apesar do método LC-MS/MS ser altamente sensível, possibilitando a detecção de níveis muito baixos (LQ= 0,85 ug/kg Σ AFL), as aflatoxinas não foram detectadas em nenhuma das amostras estudadas. Uma explicação pode ser devido ao fato de a castanha-do-Brasil descascada ser submetida a três etapas de classificação/seleção durante o beneficiamento: na retirada da casca (quebra), mesas de classificação, além da seleção prévia antes da quebra como mostra a Figura 1. Tais etapas permitem o descarte de deterioradas e não-conformes ao padrão para beneficiamento, reduzindo fortemente a possibilidade de contaminação dos lotes do produto acabado. Pacheco et al. (44) relataram que amostras (coletadas em Manaus, no estado do Amazonas, Brasil) obtidas após a secagem, ou seja, do produto acabado, não apresentaram contaminação por aflatoxinas. Outros trabalhos também não detectaram aflatoxinas em castanha-do-Brasil sem casca (17, 45, 46). Segundo o relatório da Comissão do *Codex Alimentarius* (47), ficou estabelecida a mudança do limite de 4 ug/kg de aflatoxina total para 10 ug/kg em castanha-do-Brasil sem casca pronta para consumo, e para 15 μ g/kg em castanha sem casca destinadas ao posterior processamento. Sendo assim, todas as amostras estudadas no presente trabalho apresentaram-se de acordo com a legislação brasileira, com máximo de 30ug/kg (48), além de atender a legislação europeia.

^{226}Ra , ^{228}Ra e ^{224}Ra em Castanha-do-Brasil: Na Tabela 2 estão descritas as atividades medidas para cada radionuclídeo. Na Figura 2 está representado o espectro da castanha-do-Brasil incinerada. Todas as amostras estudadas apresentaram atividade acima das atividades mínimas detectáveis para todas as linhas utilizadas. A atividade do ^{226}Ra foi calculada a partir da média ponderada das atividades dos radionuclídeos ^{214}Pb e ^{214}Bi . Esta atribuição é feita, pois o que realmente está presente na castanha-do-Brasil é o ^{226}Ra , já que este apresenta meia vida de 1620 anos, ou também ^{238}U , que tem uma meia vida de $4,5 \times 10^9$ anos. Mas como há a possibilidade da castanha estar absorvendo apenas ^{226}Ra , ao invés de ^{238}U , atribuímos as atividades do ^{214}Pb e ^{214}Bi ao ^{226}Ra . Da mesma forma a atividade do ^{228}Ac foi atribuída ao ^{228}Ra e a atividade do ^{212}Pb e do ^{208}Tl foi atribuída ao ^{224}Ra .

Figura 2 – Espectro líquido da castanha do Brasil.



^bPb = Chumbo. ^aBi = Bismuto. ^cAc = Actínio

Os valores elevados para a atividade tanto do ²²⁶Ra quanto para o ²²⁸Ra na castanha, em relação a outros alimentos, já eram esperados uma vez que a árvore de castanha-do-Brasil tem uma grande capacidade de absorver rádio do solo. Os baixos valores encontrados para a atividade do ²²⁴Ra concordam com os valores encontrados por Parekh et al. (6). A menor atividade foi encontrada para o ²²⁴Ra com $11,21 \pm 3,18 \text{ Bq/kg}^{-1}$ e a maior foi para o ²²⁸Ra com $136,10 \pm 16,15$. Como mostra a Tabela 2, a atividade do ²²⁸Ra é mais que seis vezes o valor da atividade do ²²⁴Ra na castanha, isto sugere fortemente que a árvore da castanha-do-Brasil absorve mais ²²⁸Ra que ²²⁴Ra, ou somente ²²⁸Ra do solo.

Os valores das atividades para o ²²⁶Ra e ²²⁸Ra foram maiores do que os relatados por Parekh et al. (6) e Hiromoto et al. (49). Adotando $\alpha = 0,05$, pode-se afirmar que não existem diferenças significativas para a atividade do ²²⁶Ra ($p > 0,30$) entre os diferentes tamanhos de castanha. Em contrapartida, para ²²⁴Ra e o ²²⁸Ra o teste apontou haver diferenças estatisticamente significativas entre os tamanhos ($p < 0,05$). Procedendo-se o teste de comparações múltiplas com

a média de postos, detectou-se maior atividade do ^{224}Ra para os tamanhos pequeno e grande. Para o ^{228}Ra , as maiores atividades ocorrem nos tamanhos pequeno e médio. É possível haver um padrão de decréscimo da atividade dos radionuclídeos com o incremento do tamanho.

Finalmente, foi avaliada a possível relação entre a concentração de Se e a atividade do ^{224}Ra , ^{226}Ra e ^{228}Ra (Figura 3). Contudo, os índices de correlação ficaram abaixo de 50%, permitindo afirmar que não houve esta relação nas amostras estudadas. A correlação foi mais forte entre radionuclídeos (Figura 4).

Figura 3 – Correlação entre Se e Radionuclídeos: ^{224}Ra , ^{226}Ra e ^{228}Ra .

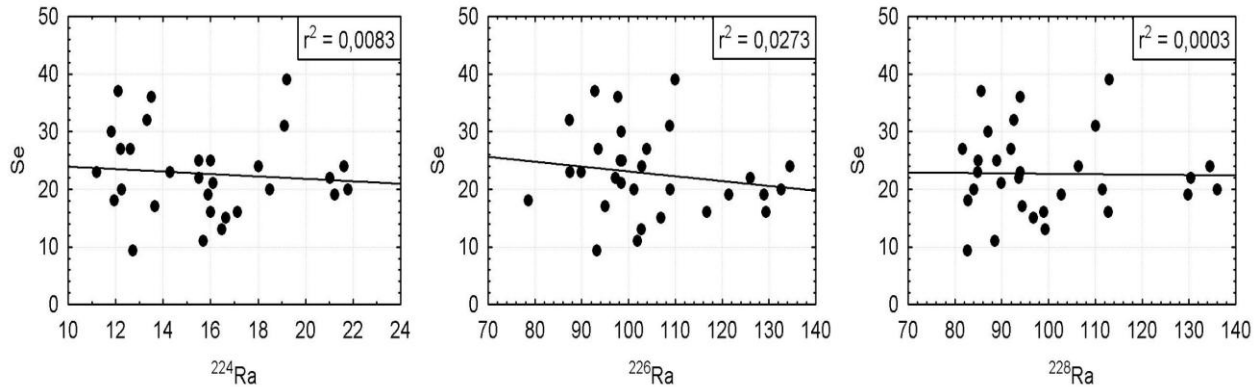
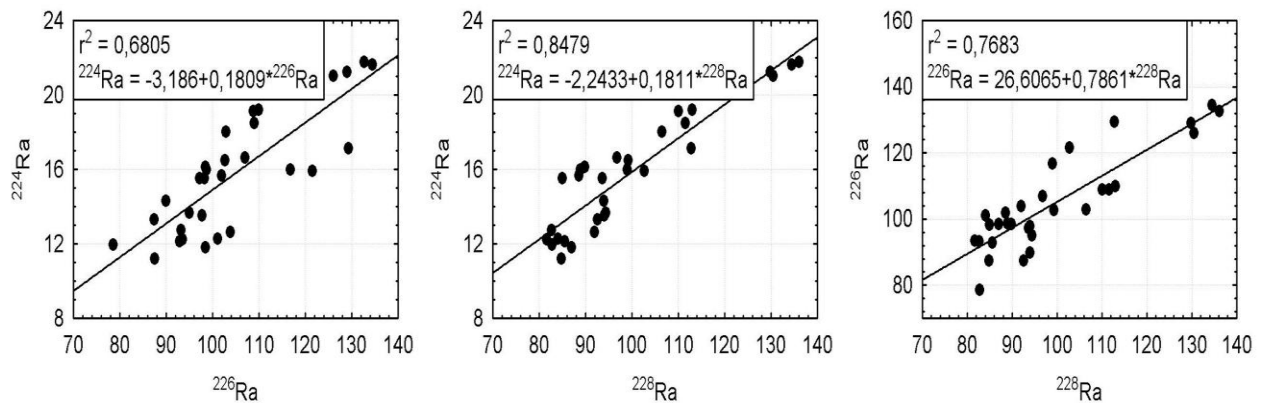


Figura 4 - Correlação entre Radionuclídeos: ^{224}Ra , ^{226}Ra e ^{228}Ra .



Doses efetivas comprometidas: As doses efetivas comprometidas foram calculadas supondo, como limite superior, que o consumo anual de castanhas, com a taxa observada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (33) e pela Organização Mundial de Saúde (34), seja totalmente, devido ao consumo de castanha-do-Brasil. Os resultados para as doses efetivas comprometidas estão apresentados na Tabela 3.

As doses efetivas comprometidas estimadas através das taxas de consumo sugeridas apresentaram diferenças significativas entre si para os três radionuclídeos ($p < 0,001$). Contudo, com base nos resultados da Tabela 3, pode-se afirmar que, para ambas as estimativas de consumo, todas as doses efetivas comprometidas verificadas no presente trabalho apresentam doses abaixo dos limites máximos estabelecidos pela UNSCEAR (31) para os radionuclídeos estudados, não oferecendo risco à saúde.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Chunhieng, T.; Hafidi, A.; Pioch, D.; Brochier, J.; Montet, D. Detailed Study of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) Oil Micro-Compounds: Phospholipids, Tocopherols and Sterols. *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, 19 (7), 1374-1380.
- (2) Da Costa, P. A., Ballus, C. A., Teixeira-Filho, J.; Godoy, H. T. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. *Food Res. Int.* **2010**. Doi: 10.1016/j.foodres.2010.04.025.
- (3) Ryan, E. et al. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of Brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. *Int. J. of Food Sci. and Nutrition.* **2006**, 57, 219-228.
- (4) Rayman, M. P. The importance of selenium to human health. *The Lancet.* **2000**, 356(9225), 233-241.
- (5) Yang, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. *Food Sci. and Technol.* **2009**, 42, 1573–1580.
- (6) Parekh, P.P., Khan, A.R., Torres, M.A., Kitto, M.E. Concentrations of selenium, barium, and radium in Brazil nuts. *J. of Food Compd. Anal.* **2008**, 21, 332–335.
- (7) Uchida, S.; Tagami, K.; Shang, Z. R.; Choi, Y. R. Uptake of radionuclides and stable elements from paddy soil to rice: a review. *J. of Environ. Radioact.* **2009**, 100, 739–745.
- (8) Tagami, K.; Uchida, S. Radium-226 transfer factor from soils to crops and its simple estimation method using uranium and barium concentrations. *Chemosphere.* **2009**, 77,105–114.
- (9) Gabay, J.; Sax, J. J. Retention of Radium due to Ingestion of Brazil nuts. *Health Phys.* Pergamon Press. **1969**, 16, 812-813.

- (10) Turner, R. C.; Radley, J. M.; Mayneord, W. V. The naturally occurring alpha activity of foods. *Health Phys.* **1958**, 1, 268-275.
- (11) Smith, K. A. The Comparative Uptake and Translocation by Plants of Calcium, Strontium, Barium, and Radium. *Plant Soil.* **1971**, 34, 369-379.
- (12) Irigaray, P.; Mewby, J.A.; Clapp, R.; Hardell, L.; Howard, V.; Montagnier, L.; Epstein, S.; Belpomme, D. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomed. Pharmacother.* **2007**, 61(10), 640-658.
- (13) Balonov, M. Exposures from environmental radioactivity: international safety standards. *App. Radiation and Isotopes.* **2008**, 66 (11), 1546-1549.
- (14) Celik, N.; Cevik, U.; Celik, A.; Kucukomeroglu, B. Determination of indoor radon and soil radioactivity levels in Giresin, Turkey. *J. of Environ. Radioactivity.* **2008**, 99(8), 1349-1354.
- (15) Pacheco, A. M.; Scussel, V. M. *Castanha-do-Brasil: da floresta tropical ao consumidor*. Florianópolis: Editorgraf, 2006. 176 p.
- (16) Pacheco, A. M.; Scussel, V. M. Aflatoxins evaluation on in-shell and shelled dry Brazil nuts for export analysed by LC-MS/MS - 2006 and 2007 harvests. *World Mycotoxin J.* **2009**, 2 (3) 295-304.
- (17) Souza, M. L; Menezes, H. C. Processamento de amêndoa e torta de Castanha do Brasil e Farinha de Mandioca: parâmetros de qualidade. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2004**, 24 (1), 120-128.
- (18) Souza, M. L; Menezes, H. C. Extrusão de misturas de castanha do Brasil com mandioca. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2008**, 28 (2), 451-462.

- (19) Ministério de Desenvolvimento Indústria e Comércio. Secretaria de Comércio Exterior. Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet (ALICEWeb). <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/> (Acessada em Maio de 2010).
- (20) EU- European Union. Commission Decision of 4 July 2003, imposing special conditions on the import of Brazil nuts in shell originating in or consigned from Brazil (2003/493/EC). Official Journal of the European Union. 2003, 5.7.2003, L 168/33.
- (21) IARC - International Agency of Research on Cancer. Evaluation of carcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances: aromatic amines and mycotoxins. Lyon. (IARC Monographs, 56). 1997. p. 245-395.
- (22) Olsen, M.; Johnsson, P.; Möller, T.; Paladino, R.; Lindblad, M. *Aspergillus nomius*, an important aflatoxin producer in Brazil nuts? *World Mycotoxin J.* **2008**, 1(2), 123-126.
- (23) Castrillón, A.L.; Purchio, A. Ocorrência de aflatoxinas em castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa* Humb & Bonpl 1808). *Acta Amazonica.* **1988**, 18(1-2), 49-56.
- (24) Caldas, E.D.; Silva, S.C.; Oliveira, J.N. Aflatoxins and ochratoxin A in food and the risk to human health. *Rev. Saúde Públ.* **2002**, 36 (3), 319-323.
- (25) Scussel, V.M. Aflatoxin and food safety: Recent South American Perspectives. *J. of Toxicology. Toxin Reviews.* **2004**, 23,179-216.
- (26) Johnsson, P.; Lindblad, M.; Thim, A. M.; Jonsson, N.; Vargas, E. A.; Medeiros, N. L.; Brabet, C.; De Araújo, M. Q.; Olsen, M. Growth of aflatoxigenic moulds and aflatoxin formation in Brazil nuts. *World Mycotoxin J.* **2008**, 1(2), 127-137.
- (27) Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis of the 18th International AOAC, Horwitz, W., Latimer, G. W., Jr., Eds.; AOAC: Gaithersburg, MD, 2005.

- (28) United States Environmental Protection Agency (US EPA). Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. SW- 846 test methods for evaluating solid wastes physical/chemical methods, method 6010B, 1996.
- (29) Xavier, J. J. M.; Scussel, V. M. Development of an LC-MS/MS method for the determination of aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in Brazil nut. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2008**, 88(6), 425-433.
- (30) International Commission on Radiological Protection (ICRP). Age-dependent doses to members of the public from intake of radionuclides: Part 5 – Compilation of Ingestion & Inhalation Dose coefficients. ICRP Publication 72. Pergamon Press, Oxford, 1996.
- (31) United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR). Sources and Effects of Ionizing Radiation. Report Vol. I. United Nations, New York, 2000.
- (32) International Atomic Energy Agency (IAEA). International Basic Safety Standards for Protection against Ionizing Radiation and for the Safety of Radiation Sources. Safety series n° 115, 1996.
- (33) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) - Pesquisa de Orçamentos Familiares - Aquisição Alimentar Domiciliar Per Capta (2002 – 2003), 2004.
- (34) World Health Organization (WHO). GEMS/Food Consumption Cluster Diets. http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/regional_diets/en/, (acessada em abril de 2010).
- (35) Moodley, R.; Andrew, K.; Jonnalagadda, S. B. 'Elemental composition and chemical characteristics of five edible nuts (almond, Brazil, pecan, macadamia and walnut) consumed in Southern Africa', *J. of Environ. Sci. and Health.* **2007**, Part B, 42 (5), 585 – 591.

- (36) Rodushkin, B.; Engström, E.; Sörlin, D.; Baxter, D. Levels of inorganic constituents in raw nuts and seeds on the Swedish market. *Sci. of the Total Environ.* **2008**, 392, 290-304.
- (37) Bodó, E. T.; Stefánka, Z.; Ipolyi, I.; Sörös, C.; Dernovics, M.; Fodor, P. Preparation, homogeneity and stability studies of a candidate LRM for Se speciation. *Anal. Bioanal Chem.* **2003**, 377, 32-38.
- (38) Chunhieng, T.; Pétritis, K.; Elfakir, C.; Brochier, J.; Goli, T.; Montet, D. Study of selenium in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. *J. of Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 4318-4322.
- (39) Pacheco, A. M.; Scussel, V. M. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the Easten and Western Amazon basin. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55 (26), 11087-11092.
- (40) National Academy of Sciences (NAS). Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. 2000, <http://www.nap.edu/catalog/9810.html> (acesso em: 15 de Maio de 2010).
- (41) Kaprara A.; Krassas G. E. Selenium and thyroidal function; the role of immunoassays. *Hell J. Nucl Med.* **2006**, 9 (3), 195-203.
- (42) Thomson, C.D.; Chisholm, A.; McLachlan, S. K.; Campbell, J. M. Brazil Nuts: an effective way to improve selenium. *Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, 87, 379-384.
- (43) De Mello, F. R.; Scussel, V. M. Characteristics of In-Shell Brazil Nuts and Their Relationship to Aflatoxin Contamination: Criteria for Sorting. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 9305–9310.
- (44) Pacheco, A. M.; Lucas, A.; Parente, R.; Pacheco, N. Association between aflatoxin and aflatoxigenic fungi in Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **2010**, 30 (22), 1-6.

- (45) Ioannou-Kakouri E.; Aletrari M.; Christou E.; Hadjioannou-Ralli A.; Koliou A.; Akkelidou D. Surveillance and Control of Aflatoxins B1, B2, G1, G2 and M1 foodstuffs in the Republic of Cyprus:1992-1996. *Food and Chem. Contaminants*. **1999**, 82 (4), 883-892.
- (46) Freire, F.; Offord, L. Bacterial and yeast counts in Brazilian commodities and spices. *Braz. J. Microbiol.* São Paulo/SP. **2002**, 33 (2), 145-148.
- (47) Codex Alimentarius Commission (CAC, 2010). Report of the Fourth Session of the Codex Committee on Contaminants in Foods. CL 2010/13-CF. Izmir, Turkey. 2010.
- (48) Brasil. Ministério da Agricultura. Castanha-do-Brasil: levantamento preliminar. Belém: Delegacia Estadual do Ministério de Agricultura. Federação da Agricultura do Estado do Pará. 1976, 69p.
- (49) Hiromoto, G., Oliveira, J., Carvalho, J. S., Vicente, R. & Bellintani, S. A. (1996). Collective dose and risk assessment from Brazil nut consumption. *Radiation Protection Dosimetry*, 67 (3), 229-230.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados de atividades de radionuclídeos e concentração de Se na castanha-do-Brasil, podem contribuir com o entendimento do processo de absorção de elementos pela árvore da castanha-do-Brasil. Uma análise mais minuciosa neste sentido poderia fornecer informação das características do solo da região de onde as castanhas foram provenientes.

Além disso, outra sugestão para futuros trabalhos seria a determinação da atividade de alguma linha de energia da série do Urânio que esteja antes do ^{226}Ra . Com isso, seria possível fazer uma análise de toda a série e verificar se a mesma está em equilíbrio na castanha-do-Brasil.

Ainda de forma a estudar outras variáveis determinantes na produção de aflatoxinas, seria interessante avaliar o teor de umidade e atividade de água da castanha-do-Brasil em toda a cadeia produtiva. Tais aspectos poderiam constituir um avanço para encontrar ferramentas de prevenção da contaminação.