

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

JANAINA SANTOS BARRONCAS

A SECAGEM NO PROCESSAMENTO DA CASTANHA-DO-BRASIL COMO
FERRAMENTA DE PREVENÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS

MANAUS
2020

JANAINA SANTOS BARRONCAS

**A SECAGEM NO PROCESSAMENTO DA CASTANHA-DO-BRASIL COMO
FERRAMENTA DE PREVENÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ARIANE MENDONÇA KLUCZKOVSKI

MANAUS
2020

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

B277s Barroncas, Janaína Santos
A secagem no processamento da castanha-do-Brasil como ferramenta de prevenção da contaminação por aflatoxinas / Janaína Santos Barroncas, Ariane Mendonça Kluczkovski. 2020
61 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Ariane Mendonça Kluczkovski
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Bertholletia excelsa. 2. higroscopicidade. 3. secagem. 4. aflatoxinas. I. Kluczkovski, Ariane Mendonça. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

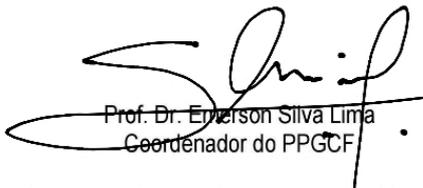
**“A secagem no processamento da castanha-do-Brasil como ferramenta
de prevenção da contaminação por aflatoxinas”**

DISCENTE: JANAÍNA SANTOS BARRONCAS

PARECER:

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas em sua forma final e definitiva pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Manaus, AM, 27/11/2020.

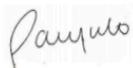


Prof. Dr. Emerson Silva Lima
Coordenador do PPGCF

**A mesma foi apresentada perante a banca composta pelos seguintes
professores:**



Profa. Dra. Arianne Mendonça Kluczkovski
Orientadora e Presidente da Banca (UFAM)



Prof. Dr. Pedro Henrique Campelo Félix
Membro (UFAM)



Profa. Dra. Ormezinda Celeste Cristo Fernandes
Membro (FIOCRUZ)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida e força a mim conferidas e aos meus pais, Sálvio e Dayse, agradeço pelo incentivo, por todo o investimento em minha educação e por não me deixarem desistir mesmo nos momentos mais difíceis desses últimos anos.

À minha orientadora Ariane Kluczkovski e ao professor Emerson Lima por todo o apoio e ensinamentos durante a realização desta pesquisa e aos membros da banca por terem aceito meu convite para compor a mesma.

Aos meus colegas de grupo de pesquisa do NECTA, principalmente à técnica responsável pelo laboratório de pesquisa, Arine Lopes, que esteve presente durante este período de pesquisa sempre disposta a me ajudar no que fosse preciso, compartilhando os trabalhos e lutas diárias.

Ao meu companheiro e namorado Samir de Carvalho (atualmente responsável pelo laboratório), que me apoia incondicionalmente em todos os aspectos da minha vida e na execução deste trabalho não seria diferente.

Às minhas amigas Cibele Viana e Kamilla Sousa, de outros grupos de pesquisa do PPGCF, que me auxiliaram com conhecimento ou nas análises mesmo tendo também seus trabalhos para fazer.

Gostaria ainda de agradecer ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFAM pela oportunidade de obter este título e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas – FAPEAM pela concessão da bolsa de estudos.

*“A resposta certa não importa nada: o essencial é
que as perguntas estejam certas”.*
(Mario Quintana)

RESUMO

A Castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K), planta nativa da Amazônia, desenvolve-se em regiões de clima quente e úmido. Sua amêndoa conhecida como castanha-do-Brasil é nutricionalmente rica, por ser composta por ácidos graxos, proteínas de alto valor biológico, fibras, minerais e selênio. A aflatoxina é uma micotoxina produzida pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, que pode contaminar castanhas (como a castanha-do-Brasil) não processadas, ou processadas inadequadamente. Esses fungos produzem metabólitos tóxicos para a saúde humana e animal, destacando-se os tipos: B1, B2, G1 e G2. O processo de secagem é a principal etapa na cadeia produtiva da castanha, pois a realização deste procedimento pode colaborar na prevenção do desenvolvimento de micotoxinas e assim fornecer um produto de qualidade. Por isso, devem ser mantidos níveis de atividade de água abaixo de 0,7, visto que a partir deste, inicia-se o crescimento de microrganismos patogênicos. A partir destes aspectos, o objetivo deste trabalho foi analisar os teores de água (atividade de água e umidade) presentes em castanhas oriundas de uma usina de beneficiamento como forma de validação do processo de secagem realizado por esta nas safras de 2019 e 2020, quantificando também aflatoxinas em equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para efeito comparativo. Os resultados obtidos mostraram os teores de água das duas safras, bem como das amostras processadas e não processadas. Foi observado que as amostras processadas apresentavam níveis mais baixos de umidade em relação às amostras não processadas, algo visto nas duas safras. Contudo, não foram observadas diferenças significantes entre uma safra e outra no que diz respeito a umidade. Observou-se também que não houve amostra positiva para AFL em nível de $a_w < 0,9$. É plausível concluir que o processo de secagem com controle do tempo e da temperatura assim como as condições de armazenamento posteriores ao processo realizado na usina de beneficiamento, teve impacto direto na qualidade final do produto. É importante destacar que o procedimento deve ser aplicado não só após o início do processo industrial, mas também desde o momento da coleta da matéria-prima.

Palavras-chave: *Bertholletia excelsa*; higroscopicidade; secagem; aflatoxinas.

ABSTRACT

The Castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K), native to the Amazon, grows in regions with hot and humid climates. Its almond known as Brazil nut is nutritionally rich, as it is composed of fatty acids, proteins of high biological value, fibers, minerals and selenium. Aflatoxin is a mycotoxin produced by the fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, which can contaminate unprocessed or improperly processed nuts (such as Brazil nuts). These fungi produce metabolites toxic to human and animal health, with emphasis on the types: B1, B2, G1 and G2. The drying process is the main stage in the nut production chain, as this procedure can help prevent the development of mycotoxins and thus provide a quality product. Therefore, water activity levels below 0.7 must be maintained, since from this point on, the growth of pathogenic microorganisms starts. From these aspects, the objective of this work was to analyze the water contents (water and moisture activity) present in chestnuts from a processing plant as a way of validating the drying process carried out by it in the 2019 and 2020 harvests, quantifying also aflatoxins in high performance liquid chromatography (HPLC) equipment for comparative effect. The results obtained showed the water contents of the two harvests, as well as the processed and unprocessed samples. It was observed that the processed samples had lower levels of humidity in relation to the unprocessed samples, something seen in the two harvests. However, no significant differences were observed between one crop and another regarding moisture content. It was also observed that there was no positive sample for AFL at $a_w < 0.9$. It is plausible to note that the drying process with time and temperature control as well as the storage conditions after the process carried out at the beneficiation plant had a direct impact on the final quality of the product. It is important to highlight that the procedure must be used not only after the beginning of the industrial process, but also from the moment of raw material collection.

Keywords: *Bertholletia excelsa*; hygroscopicity; drying; aflatoxins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Castanheira-do-Brasil (<i>Bertholletia excelsa</i> H.B.K)	14
Figura 2 – Ouriço contendo as castanhas	15
Figura 3 – Castanhas com casca e sem casca	15
Figura 4 – Distribuição espacial das castanheiras pelos estados da Amazônia legal e países da Amazônia internacional	16
Figura 5 – Fluxograma da fase exploratória da castanha-do-Brasil	19
Figura 6 – Fluxograma genérico de beneficiamento de castanha-do-Brasil sem casca com as etapas de seleção	20
Figura 7 – Água total, livre e ligada	24
Figura 8 – Estrutura química das principais aflatoxinas	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade de água mínima para crescimento fúngico e produção de micotoxinas.....	25
Tabela 2 – Avaliação do grau de contaminação por aflatoxinas em castanhas processadas.....	30
Tabela 3 – Avaliação do grau de contaminação por aflatoxinas em castanhas não processadas.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN – Acetonitrila

AFB1 – Aflatoxina B1

AFB2 – Aflatoxina B2

AFG1 – Aflatoxina G1

AFG2 – Aflatoxina G2

AFL – Aflatoxina

AFM1 – Aflatoxina M1

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância em Saúde

A_w – Atividade de Água

BPM – Boas Práticas de Manipulação

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CO₂ – Dióxido de Carbono

DON – Desoxinivalenol

FAO – *Food and Agriculture Organization*

HACCP – Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

IAC – Coluna de Imunoafinidade

IARC – *International Agency for Research on Cancer*

JECFA – *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*

LCMS/MS – Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas

LMT – Limite Máximo Tolerado

LOD – Limite de Detecção

LOQ – Limite de Quantificação

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

M_c – Teor de Umidade

MeOH – Metanol

OMS – Organização Mundial de Saúde

OTA – Ocratoxina A

RDS – Reservas de Desenvolvimento Sustentável

RESEX – Reservas Extrativistas

UR – Umidade Relativa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Castanha-do-Brasil	14
2.1.1 Distribuição geográfica	16
2.1.2 Composição nutricional.....	16
2.1.3 Extrativismo	18
2.1.4 Produção e exportação	18
2.1.5 Cadeia produtiva	19
2.2 Micotoxinas	21
2.2.1 Fatores que podem influenciar o crescimento de micotoxinas.....	23
2.2.2 Métodos de determinação de micotoxinas	25
2.2.3 Legislação para micotoxinas	27
2.3 Aflatoxina (AFL)	28
2.3.1 Aflatoxinas em castanha-do-Brasil	30
3 OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo geral	33
3.2 Objetivos específicos	33
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
5 ARTIGO	44
A SECAGEM NO PROCESSAMENTO DA CASTANHA-DO-BRASIL COMO FERRAMENTA DE PREVENÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS	44
5.1 Resumo	45
5.2 Abstract	46
5.3 Introdução	47
5.4 Materiais e Métodos	49
5.4.1 Amostragem	49
5.4.2 Conteúdo de umidade (<i>mc</i>) e atividade de água (<i>a_w</i>).....	49
5.4.3 Quantificação de aflatoxina (AFL).....	50
5.4.4 Análise estatística.....	50
5.5 Resultados e Discussão	51
5.6 Conclusão	56
5.7 Referências Bibliográficas	57
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61

1 INTRODUÇÃO

A Castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K), planta nativa da Amazônia é considerada uma das maiores riquezas da região, por ser uma importante espécie de exploração extrativista e de excelente composição nutricional. No entanto, as condições climáticas da floresta Amazônica podem favorecer a contaminação da castanha-do-Brasil por micotoxinas, agentes cancerígenos que devem ser monitorados. Desenvolve-se em regiões de clima quente e úmido com temperaturas médias de 25°C, chuvas abundantes e períodos de estiagem bem definidos (SOUZA e MENEZES, 2004; COSTA et al., 2009; MÜLLER, 1995).

Sua semente também conhecida como castanha-do-Brasil ou castanha-do-Pará é considerada um alimento nutricionalmente rico, pois é constituída por ácidos graxos insaturados e proteínas de alto valor biológico, além de ser uma excelente fonte de fibras, vitaminas, minerais e selênio (SILVA et al., 2010; SOUZA, 2003).

A intensificação da coleta na floresta, o uso de equipamentos específicos para a quebra do ouriço (fruto da castanheira), como facão e lona plástica, a proteção contra chuvas, evitar o contato da castanha com outros tipos de contaminações durante o transporte e, principalmente, uma estrutura de armazenamento adequada, são recomendações feitas ao extrativista para manter a qualidade da castanha-do-Brasil (CAMPO/PAS, 2004).

Os procedimentos comumente adotados para a produção da castanha-do-Brasil, são fatores relevantes na segurança de alimentos. Estes, em grande parte, não garantem a qualidade do produto, levando a sua contaminação que pode ser: física, química e/ou microbiológica. Esses fatores podem gerar riscos à saúde do consumidor além de interferir em seu valor comercial. Nesse contexto, a contaminação química por agentes cancerígenos produzidos por fungos, no caso as micotoxinas, tem sido um problema quando se trata do quesito exportação, principalmente para países da Europa (ZINGRA, 2015).

Um das principais etapas do beneficiamento da castanha-do-Brasil é a secagem que, consiste em reduzir seu teor de umidade a fim de diminuir a disponibilidade de água no meio e com isso cessar o crescimento de fungos e conseqüentemente o crescimento de micotoxinas. Esse procedimento é fundamentado na propriedade pela qual, elevando-se a temperatura do ar, a sua umidade é reduzida e, com isso aumenta a sua capacidade de absorver vapor d'água (COSTA, 2012).

O Codex Alimentarius (2006) recomenda que a umidade das castanhas depois da coleta seja diminuída até uma faixa que garanta a segurança do produto, que, de acordo com o Programa de Alimentos Seguros (CAMPO/PAS, 2004), fica entre 13 a 15%. Contudo o maior

problema no beneficiamento da castanha acontece durante a secagem do produto, uma vez que esta etapa não oferece garantias quanto suas condições de armazenamento e transporte e, se caso não estiverem apropriadas, há também o risco de a castanha absorver água o que pode levar a um processo de rancidez. Com a variação entre períodos de chuva e sol as castanhas podem também acabar secando de forma não uniforme acarretando problemas na sua armazenagem (COSTA, 2012). Deste modo, a chance de contaminação é reduzida com a diminuição do teor de umidade da castanha para valores inferiores aos favoráveis para o desenvolvimento de fungos (FREITAS-SILVA; VENÂNCIO, 2010).

Por isso, sabendo que as condições de secagem e armazenamento devem ser as mais adequadas possíveis para que se evite a proliferação de fungos toxigênicos na castanha, este trabalho analisou os teores de umidade, atividade de água e para efeito comparativo a concentração de aflatoxinas em amostras de castanha-do-Brasil secas e não secas de duas safras consecutivas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Castanha-do-Brasil

A região Amazônica tem grande potencial e valor para a indústria de alimentos por possuir diferentes espécies de oleaginosas. A grande quantidade de alimentos exóticos oferecidos pela natureza vem aumentando o interesse em pesquisas científicas, buscando fornecer alimentos mais saudáveis e que sejam fontes de nutrientes essenciais (SOUSA; FERREIRA, 2006).

A Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K), considerada uma espécie nativa da Amazônia, foi descrita em 1808 por Humbolt e Bonpland e pertence à família das Lecitidáceas. É uma árvore típica de florestas tropicais úmidas de terra firme, com ocorrência natural ao longo da bacia hidrográfica dos rios Amazonas e Orenoco, sendo encontrada nos estados de Rondônia, Acre, Amazonas, Roraima, Pará, Amapá e Mato Grosso (SCOLES e GRIBEL, 2015; TONINI et al., 2014).

Trata-se de uma árvore de grande porte, que chega a medir de 50 a 60 metros de altura e possui tronco escuro, liso com ramos apenas próximos da extremidade (Figura 1). É considerada a “rainha” da Floresta Amazônica pela beleza e esplendor que apresenta, podendo sua base medir 2 metros de diâmetro (BRASIL, 2002). De acordo com Wadt e Silva (2008), por ser uma espécie de vida longa, pode chegar até 1.000 anos.



Figura 1: Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K).
Fonte: GOMES, 2015.

Seu fruto conhecido como ouriço (Figura 2) constitui-se de uma camada esférica de substância lenhosa, extremamente dura. Podem pesar de 0,5 a 5 quilos e conter de 10 a 25 sementes agudas, triangulares, envoltas em polpa amarela (BRASIL, 2002). São coletados nas estações de chuvas mais intensas, durante 5 a 6 meses quando caem das árvores. A castanheira produz frutos anualmente, porém a quantidade de fruto produzida por uma árvore varia ano a ano (TONINI et al., 2008). Castanheiras novas produzem de 30 a 50 ouriços ao ano, enquanto que castanheiras maduras de 200 a 400 anos, podem chegar a produzir até 1.000 ouriços em apenas um ano (APIZ, 2009).



Figura 2: Ouriço contendo as castanhas.
Fonte: GOMES (2015).

A castanha é composta pela semente, comumente chamada de amêndoa, envolta de uma película. Pode ser de diversos tamanhos, e comercializada de acordo com a classificação do Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento (BRASIL, 1976) em: com casca e sem casca (Figura 3). O período de floração inicia em setembro e se estende até fevereiro. Os frutos levam 15 meses para amadurecer, começando a cair em novembro, no início da estação chuvosa, prolongando-se até o mês de março. Uma árvore pode produzir de 100 a 150 quilos na época da safra (APIZ, 2009).



Figura 3: Castanhas com casca e sem casca.
Fonte: GOMES (2015).

As castanheiras muitas vezes formam grupos mais ou menos extensos, conhecidos como castanhais, onde se encontram associadas a outras espécies de árvores de grande porte. A espécie se desenvolve bem em terras firmes, solos argilosos ou argilo-arenosos, com umidade relativa variando entre 79 a 86% e precipitação total anual entre 1.400 a 2.800 mm. A

temperatura média anual da floresta varia entre 24,3 e 27,2°C, com máxima de 30-32°C e mínima de 19-23°C. A dispersão de suas sementes, crescimento e capacidade de produção de frutos parecem ser afetados por diversos fatores, como ação de cipós e animais (CALDERARI, 2011).

É uma árvore ligada à cultura das populações tradicionais da Amazônia e do estado do Amazonas e seus produtos e subprodutos são utilizados como fonte de alimentação e renda há várias gerações. Diante do crescente mercado da castanha, as empresas que atuam no beneficiamento e comercialização do produto na Amazônia modernizaram suas instalações para atender às exigências impostas tanto pelos órgãos federais de fiscalização e controle quanto pelos consumidores.

2.1.1 Distribuição geográfica

A área de distribuição geográfica das castanheiras-do-Brasil estende-se pelos estados do Maranhão, Mato Grosso, Pará, Acre, Rondônia, Amapá, Roraima e Amazonas, e em países vizinhos como Venezuela, Bolívia, Peru, Colômbia e Guianas (Figura 4).

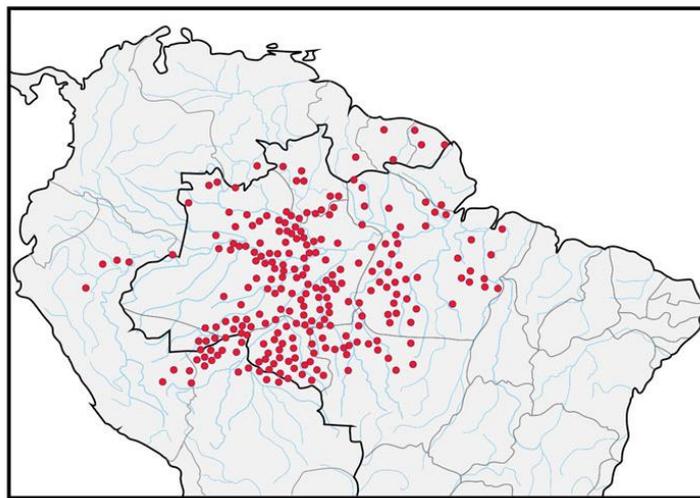


Figura 4: Distribuição espacial das castanheiras pelos estados da Amazônia legal e países da Amazônia internacional.

Fonte: SCOLES E GRIBEL (2015).

2.1.2 Composição nutricional

A Castanha-do-Brasil é um alimento grandemente apreciado pelo seu sabor, e ainda apresenta qualidades nutricionais importantes. É constituída por 60 a 70% de lipídios, expressivamente de ácidos graxos poli-insaturados, e de 15 a 20% de proteína de boa qualidade biológica, além de fonte reconhecida de selênio, cálcio, fósforo, magnésio e vitaminas do

complexo B. Tem sido ainda considerada uma boa fonte nutricional no enriquecimento e produção de alimentos como forma alternativa para alimentação da população local, em função da disponibilidade regional (SOUSA; FERREIRA, 2006).

A castanha é rica em proteínas, lipídios essenciais (ômega 3 e 6), carboidratos e fibra alimentar, possui ainda tocoferóis que podem atuar contra doenças como o câncer, aterosclerose e doenças inflamatórias, além de possuir também concentrações consideráveis de compostos fenólicos, carotenoides, selênio e a vitamina E, que possui atividade antioxidante combatendo os radicais livres e prevenindo o envelhecimento precoce. A proteína presente na castanha-do-Brasil é rica em todos os aminoácidos essenciais, como a metionina e a cisteína, que geralmente são insuficientes em proteínas vegetais. Os escores químicos apresentados por esses aminoácidos são superiores aos do padrão teórico recomendado pela FAO (KLUCZKOVSKI e SCUSSEL, 2015; RODRIGUES, 2009; SOUZA e MENEZES, 2004).

A semente também é uma importante fonte de fibras, vitaminas e minerais, sendo que dentre eles o selênio é o que tem maior importância, uma vez que a sua concentração na castanha é de 178 µg, quantidade esta suficiente para suprir a dose diária recomendada deste mineral, que é de 55 µg para adultos (KLUCZKOVSKI e SCUSSEL, 2015; PACHECO, 2007). O selênio é um mineral importante para o funcionamento imunológico e da tireoide e atua como agente protetor contra o câncer de próstata, fígado e pulmões, porém, se ingerido em excesso pode ocasionar toxicidade, chegando a afetar sistema neurológico (WHO, 2011; YANG, 2009).

A concentração deste elemento nos alimentos varia de acordo com o solo que a planta vegeta, isto é, a concentração de selênio depende da eficiência com que esse elemento é absorvido pelas raízes das árvores. Este fenômeno é dependente da maturidade e variedade da planta, da forma química do Se e do pH. Sendo assim lotes de mesma procedência podem ter heterogeneidade nos teores de selênio (PACHECO, 2007; SOUZA, 2003).

De acordo com Lima et al. (2019), o selênio é o principal mineral encontrado na castanha-do-Brasil (28 a 49 mg.kg⁻¹), sua concentração depende da área de localização do castanhal. O consumo de uma amêndoa de 5 gramas de uma área com alto teor de selênio atende a dose recomendada de 30 µg diária. O limite aceitável de ingestão de selênio é de 400 µg e o limite de toxicidade de 1200 µg. Castro (2017) mostra como o selênio é um nutriente essencial para o organismo humano. Estudos apontam que mais de um bilhão de pessoas em todo o planeta podem apresentar carência de selênio e a castanha-do-Brasil é uma forma de suplementação para prevenir a deficiência (LIMA et al., 2019).

As taxas de nutrientes mudam de acordo com o tamanho da castanha, sua variedade e origem, e os elementos presentes em maior quantidade são os lipídios, as proteínas, os

carboidratos e as fibras, nesta ordem, de modo que o valor energético do alimento é bem alto (MOODLEY et al., 2007).

2.1.3 Extrativismo

A castanha-do-Brasil é uma das principais espécies botânicas que faz parte da proteção da sociobiodiversidade brasileira. Devido as amêndoas possuírem elevado valor nutricional, a castanha foi transformada em uma importante fonte de renda, não apenas para os castanheiros que habitam as Reservas Extrativistas (RESEX) ou Reservas de Desenvolvimento Sustentável (RDS) mas várias outras populações como indígenas e quilombolas da região de produção (RIBEIRO, 2018). A castanha-do-Brasil é produzida quase que exclusivamente pelo sistema extrativista, sendo hoje a principal atividade econômica de milhares de famílias que vivem na Amazônia (WADT; KAINER, 2009).

No extrativismo da castanha-do-Brasil são empregados poucos investimentos tecnológicos, com métodos simples de coleta e quebra dos ouriços, feitas ainda dentro da floresta, seguida das etapas de transporte, armazenamento e beneficiamento das castanhas (CALDERARI, 2011). A produção dos agricultores que habitam os assentamentos é comprada por atravessadores, que vêm de outros estados na época de safra da castanha. Estes armazenam a produção em depósitos por um período de até 90 dias, esperando a entressafra no Acre, Amazonas e Pará e o aumento dos preços (TONINI et al., 2014).

2.1.4 Produção e exportação

Até a década de 1970, cerca de 80% da castanha-do-Brasil era destinada à exportação. No entanto, a partir do ano de 2001, houve forte pressão do mercado europeu com relação ao controle fitossanitário para aflatoxina. Diante da suspeita de contaminação foram devolvidos cerca de 466.217 quilos exportados por cinco países – Alemanha, Itália, França, Holanda e Inglaterra. Esse acontecimento despertou suspeita internacional quanto à sanidade da castanha. E como consequência iniciou o declínio das exportações brasileiras e o fechamento de várias unidades de beneficiamento tradicionais (HOMMA, 2016).

A produção brasileira em 2017 foi de 26.191 toneladas e alcançou 104,1 milhões de reais. O município de Humaitá (a 590 quilômetros a sudoeste de Manaus) liderou a produção nacional de castanha-do-Brasil, em 2018, com 4 mil toneladas, equivalente a 11,7% do volume total produzido no país. O estado do Amazonas foi o maior produtor nacional, com 12,1 mil toneladas. A safra em 2018 alcançou 34.170 toneladas. Mesmo com menor preço médio em

razão da maior oferta do produto no mercado, o crescimento no valor de produção foi de 35,4%, alcançando 130,9 milhões de reais (BITENCOURT, 2020).

2.1.5 Cadeia produtiva

Trata-se de um conjunto de práticas dividido em duas fases principais. A primeira é a fase exploratória (Figura 5), que se inicia na etapa de catação do ouriço, que acontece logo depois da queda até o armazenamento primário, etapa em que todos os ouriços são armazenados na floresta. O armazenamento secundário ocorre na área reservada do extrativista. O terciário, é o armazenamento da castanha, geralmente em área do extrativista ou intermediário próximo a coleta. Após esses processos, inicia-se a transferência para a beneficiadora.

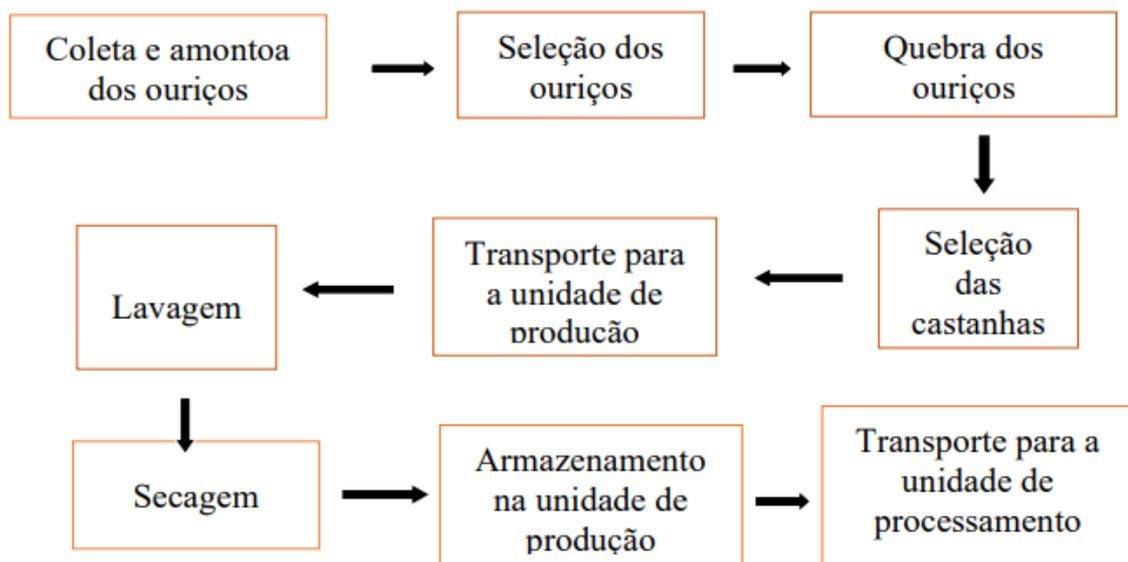


Figura 5: Fluxograma da fase exploratória da castanha-do-Brasil.
Fonte: Embrapa (2014).

Após a realização das boas práticas de manejo a castanha vai para um local conhecido como paiol, que consiste em um compartimento de madeira semelhante a um armazém, onde é realizada a secagem e o armazenamento das mesmas, e em seguida, é transferida para o paiol central, quando vai ser comercializada para a usina beneficiadora, local em que ocorrerá o beneficiamento e embalagem para comercialização o que corresponde a segunda fase (FERNANDES, 2016).

Na usina de beneficiamento o manejo da castanha-do-Brasil deve ocorrer seguindo os passos propostos pelas Boas Práticas de Manipulação (BPM) (WADT, 2005) e, em geral, ocorre segundo o fluxograma descrito por Kluczkovski & Scussel (2015):

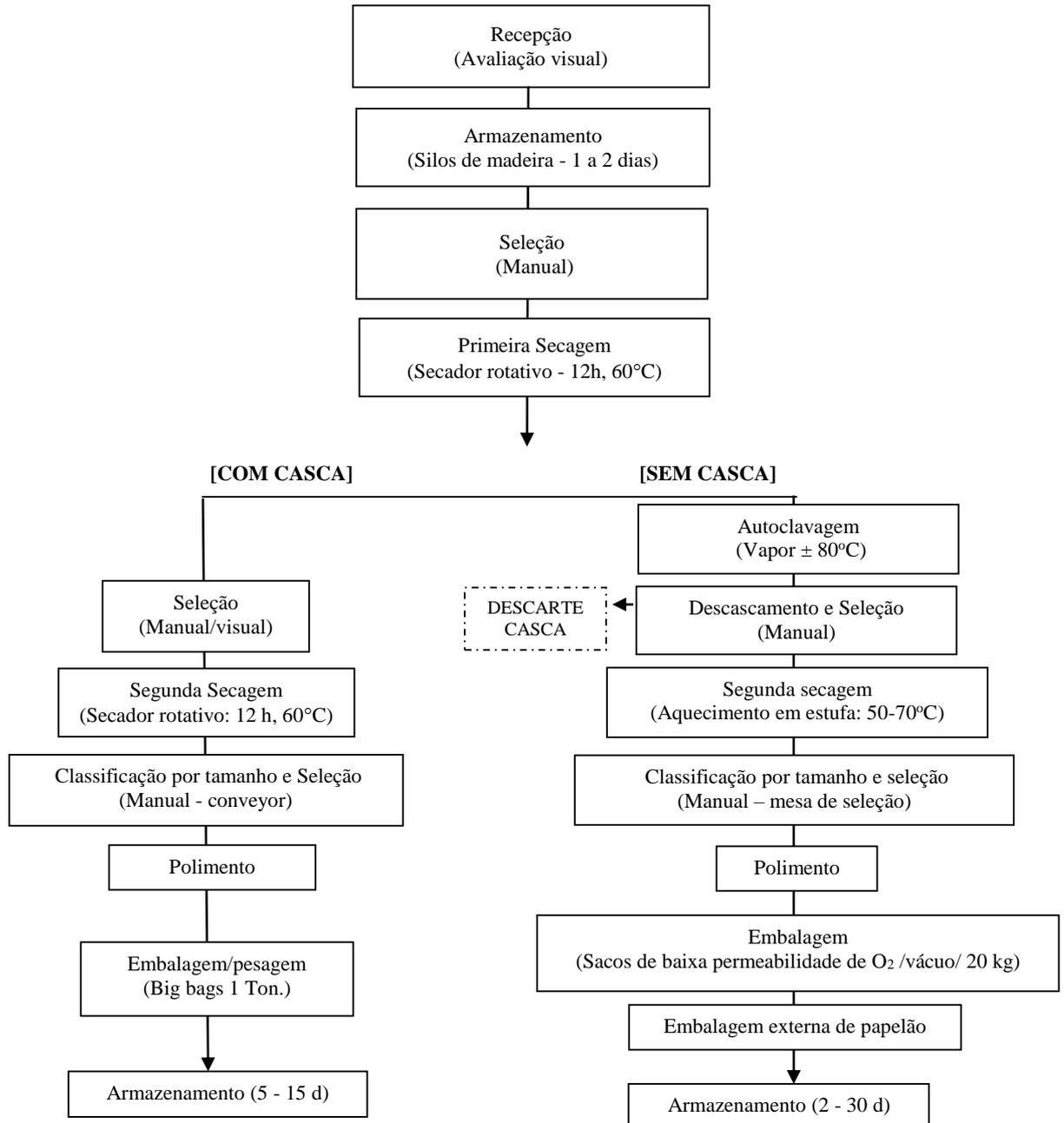


Figura 6 – Fluxograma genérico de beneficiamento de castanha-do-Brasil sem casca com as etapas de seleção.
Fonte: Pacheco & Scussel (2009).

Para reduzir as perdas na fase pós-colheita, principalmente por infestação de microrganismos, são empregados diversos métodos físicos, químicos e/ou biológicos, para aumentar a vida pós-colheita de produtos vegetais. Entre os métodos físicos para conservação pós-colheita, a secagem artificial é amplamente empregada, principalmente em sementes oleaginosas. Este método se baseia no fato de microrganismos, enzimas e todo o mecanismo metabólico necessitarem de alta atividade de água para se desenvolverem (CARVALHO, 2018).

A secagem é um processo que consiste na eliminação de água de um produto por evaporação, com transferência de calor e massa e envolve três meios de transferência de calor: convecção, condução e radiação. A transferência de calor por convecção é o meio mais utilizado na secagem comercial, em que um fluxo de ar aquecido passa através da camada do produto (FIB, 2016).

Alves et al. (2016) afirmaram que a secagem visa, além de diversificar e modificar os produtos já disponíveis, proporciona um alimento com características preservadas por longos períodos, ainda que armazenados em temperatura ambiente. Para alimentos ricos em lipídeos como as castanhas, deve-se conhecer os limites mínimos e máximos de teores de água. Segundo Salinas (2002), em teores de água muito baixo observa-se aumento da oxidação. Por outro lado, teores de água acima do recomendado para armazenamento seguro proporcionam contaminação e deterioração microbiológica parcial ou total do produto (SILVA et al., 2016).

Nesse processo, mediante convecção forçada do ar aquecido, estabelecem dois processos que ocorrem simultaneamente: transferência da água superficial do produto para o ar e movimento de água do interior para a superfície das sementes, decorrente do gradiente hídrico entre essas duas regiões (MORAES, 2000).

Esse sistema demanda existência de gradientes de pressões parciais de vapor de água entre as castanhas e o ar de secagem. De acordo com as propriedades higroscópicas, o fluxo de vapor de água ocorre no sentido da maior para a menor pressão parcial de vapor, ou seja, com o aquecimento do ar de secagem, têm-se a redução da umidade relativa e, conseqüentemente, a água tende a sair do produto por diferencial de pressão (VILLELA, 1991).

2.2 Micotoxinas

O termo micotoxina é derivado da palavra grega “*mykes*” que significa fungo e do latim “*toxican*” que significa toxinas. O termo é usado para designar um grupo de compostos produzidos por algumas espécies fúngicas durante seu crescimento e podem causar doenças ou morte quando ingeridas pelo homem ou animais. As micotoxinas são contaminantes naturais de difícil controle em alimento. Estima-se que cerca de 25% de todos os produtos agrícolas do mundo estejam contaminados por tais substâncias (BENNET & KLICH, 2003).

As micotoxinas mais comuns são: aflatoxinas; ocratoxina A (OTA); citrinina; patulina; tricotecenos: desoxinivalenol (DON), toxina T2 (T2) e toxina HT2 (HT2); fumonisinas e zearalenona (ZEN). Esses metabólitos são produzidos principalmente por fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Alternaria* (ANFOSSI et al., 2016).

Várias espécies de fungos podem produzir a mesma micotoxina, e uma única espécie pode sintetizar mais de uma micotoxina. No entanto, o crescimento dos fungos toxigênicos não implica necessariamente na produção de micotoxinas. Da mesma forma, a ausência de micotoxina não é assegurada pela eliminação de fungos, pois pode ter sido produzida antes da inativação dos fungos (TURNER et al., 2009).

As micotoxinas são termoestáveis, possuem baixo peso molecular, possuem uma alta estabilidade química, sendo resistentes a altas temperaturas, a tratamentos químicos e ação de enzimas digestivas e, por isso, podem permanecer nos alimentos mesmo após a remoção dos fungos durante a industrialização dos produtos (ASTROVIZA e SUAREZ, 2005; LOPES et al., 2005).

O crescimento de fungos toxigênicos e a produção de micotoxinas podem ocorrer em todos os estágios de produção e processamento (YOGENDRARAJAH et al., 2014). Seu crescimento é amplamente dependente de fatores ambientais como competição microbiana, disponibilidade de nutrientes e estrutura do substrato, atividade de água, pH, temperatura, umidade relativa, presença de insetos e aplicação de fungicidas e pesticidas (ANFOSSI et al., 2016; HAMEED et al., 2013). No entanto, esses fatores têm uma influência diferente no crescimento de fungos e na produção de micotoxinas. Apesar disso, sabe-se que esses fatores são geralmente mais estritos para a produção de micotoxinas do que para o crescimento de fungos (GARCIA et al., 2009). Portanto, é difícil descrever um conjunto de condições ambientais que estimularão o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas (CAST, 2003).

A contaminação de alimentos por fungos significa perdas econômicas e risco à saúde do consumidor (PEREIRA et al., 2002). Os alimentos armazenados representam um ótimo meio para a proliferação desses microrganismos, principalmente quando os princípios básicos de secagem adequada e armazenamento correto são desconhecidos ou desprezados (FONSECA, 2019). As perdas causadas por micotoxinas, segundo estimativa da FAO, são mundiais e situam-se ao redor de 25% dos grãos produzidos (VIEIRA, 1995).

São comumente encontradas em cereais, frutas e especiarias. No entanto, por serem compostos estáveis, as micotoxinas tendem a permanecer no produto final. Como tal, as micotoxinas são encontradas em produtos processados, como cerveja, pães, sucos, chocolate e vinho, devido ao uso de matérias-primas contaminadas (KABAK, 2009; TURNER et al., 2009). Duas ou mais micotoxinas podem ocorrer ao mesmo tempo em alimentos, elevando os níveis totais de micotoxinas presentes e afetando negativamente a saúde humana e animal (PEDROSA e BORUTOVA, 2011).

Uma grande variedade de efeitos tóxicos em animais e humanos tem sido observada devido à ingestão de alimentos contaminados com micotoxinas, tais como imunossupressão, efeitos carcinogênicos, genotóxicos, teratogênicos ou mutagênicos (ZHU et al., 2015; CE, 2006). No entanto, o impacto das micotoxinas sobre a saúde depende de diferentes fatores, incluindo os níveis de ingestão, a toxicidade do composto ingerido, o peso corporal, a espécie e a idade do indivíduo. Outros fatores incluem a presença de outras micotoxinas, tempo de exposição, condição fisiológica individual e mecanismo de ação do composto (RICHARD, 2007; HUSSEIN e BRASEL, 2001). Além disso, é possível que outras formas das micotoxinas estejam presentes, devido à transformação de suas moléculas originais em diferentes estruturas (micotoxinas modificadas), que não são detectadas pelos métodos tradicionais e podendo resultar em subnotificação.

2.2.1 Fatores que podem influenciar o crescimento de micotoxinas

Fatores ambientais são de fundamental importância quando se fala no controle da produção de micotoxinas nos alimentos. As condições de umidade e temperatura elevadas na floresta, bem como a precariedade do sistema de armazenamento da castanha favorecem a contaminação do produto por fungos filamentosos, o que pode acontecer ainda na árvore, no armazenamento intermediário ou no transporte, ocasionando sua deterioração e eventual contaminação por micotoxinas. Estes fungos podem penetrar na casca da castanha-do-Brasil em condições de umidade relativa superior a 75%, e contaminar as amêndoas. O atrito das castanhas por ocasião do transporte produz rachaduras na casca facilitando o processo de invasão (DE SOUZA et al., 2004).

Para Garcia (2004), a atividade de água é:

“A água do alimento que vai reagir com microrganismos e também participar de outras reações, como as enzimáticas. Quanto mais elevada for a a_w , mais rápido os microrganismos (como bactérias, leveduras e bolores) serão capazes de crescer; logo a importância da a_w está na sua relação com a conservação dos alimentos”.

Labuza (1970) cita as três formas de apresentação da água nos alimentos: água livre (disponível ou não ligada); água adsorvida (hidratada); Água ligada (Figura: 6). A água livre encontra-se presente nos espaços intergranulares e entre os poros do material. É eliminada com facilidade e atua como meio de dispersão e nutriente para o crescimento de microrganismos ou reações químico-enzimáticas. A água adsorvida – uma parte da água que está adsorvida como uma camada muito fina nas superfícies internas e externas dos colóides macromoleculares (amidos, pectinas, celuloses e proteínas) por meio de Força de Van der Waals e formação de ligação hidrogênio. E a água ligada está combinada quimicamente com outras substâncias. Este

tipo de água não é utilizada como solvente, pois não permite o desenvolvimento de microrganismos e é difícil de ser eliminada”.

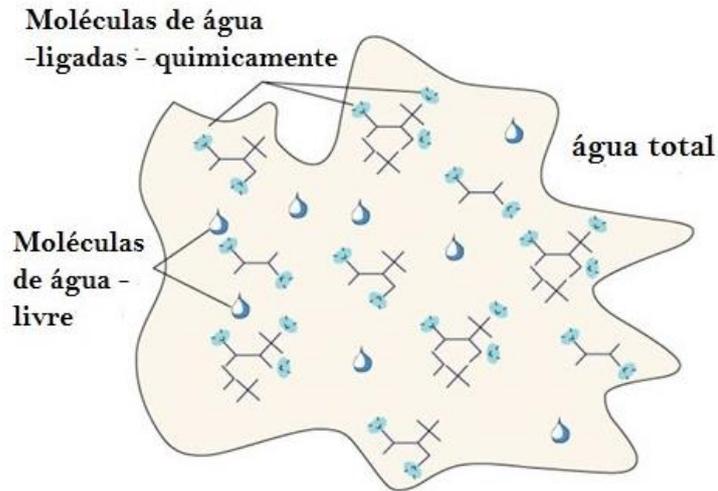


Figura 7: Água total, livre e ligada.

Fonte: Food Safety Brazil (2016). Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/diferenca-entre-atividade-de-agua-aw-e-o-teor-de-umidade-nos-alimentos/>. Acesso em: 09 ago 2019.

O crescimento e a atividade metabólica dos microrganismos precisam de água em forma disponível. A medida mais comumente empregada para expressar a estabilidade de um produto é a determinação do nível de água em sua forma livre, que em alimentos, denomina-se Índice de Atividade de Água, que é determinada pela fórmula: $a_w = P/P_0$ (CECCHI, 2003).

A a_w é então descrita como a razão entre a pressão de vapor de água no alimento dividida pela pressão de vapor da água pura na mesma temperatura. A maior parte da água contida nos alimentos é alta (geralmente $> 0,98$), o que só pode ser reduzido com a secagem dos alimentos para menos de 50% de água ou com a adição de solutos. Um alimento será estável, em relação à deterioração por microrganismos, quando a a_w for inferior a 0,60 (LABUZA, 1980).

Segundo Iamanaka et al. (2010) a maioria dos fungos necessita de umidade relativa acima de 80% e um mínimo de a_w para crescer. A produção de toxina pode não ocorrer em umidade relativa abaixo deste valor. As toxinas podem ser produzidas em atividades de água que vão de 0,60 a 0,90 em alimentos de umidade intermediária. O conteúdo de água é dependente da umidade relativa do ar à uma determinada temperatura. Os fungos são mais resistentes aos efeitos das condições de baixa a_w do que as bactérias e leveduras, e alguns podem sobreviver em produtos com uma a_w tão baixa quanto 0,60, embora 0,70 seja o mínimo que mantém o crescimento de fungos de armazenamento.

Logo, a a_w é um dos fatores intrínsecos dos alimentos e é uma medida qualitativa que permite avaliar a disponibilidade de água livre que é susceptível a diversas reações, ao passo que o teor de umidade é uma medida meramente quantitativa, medindo o percentual em peso, de toda água presente no alimento, tanto livre quanto ligada (CECCHI, 2003). Levando-se em conta a preocupação com a Segurança de Alimentos, foram definidos valores mínimos de a_w para o crescimento e produção de toxina de patógenos de importância alimentar, entre elas as aflatoxinas e ocratoxina A (Tabela 1).

Microrganismo	Aw (mín) crescimento	Aw (mín) produção de toxina
<i>Aspergillus clavatus</i>	0,85	0,99 (patulina)
<i>Aspergillus flavus</i>	0,78	0,83-0,87 (aflatoxina)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,81	0,88 (ác. penicílico)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,83	0,85 (ocratoxina)
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,82	0,87 (aflatoxina)
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,87	0,97 (ác. penicílico)
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,81	0,87-0,90 (ocratoxina)
<i>Penicillium expansum</i>	0,83-0,85	0,99 (patulina)
<i>Penicillium patulum</i>	0,83-0,85	0,95 (patulina)
<i>Penicillium viridicatum</i>	0,83	0,83-0,86 (ocratoxina)

Fonte: Adaptado de Beuchat (1981).

Tabela 1: Atividade de água mínima para crescimento fúngico e produção de micotoxinas.

Fonte: Informativo Técnico No. 158. Disponível em: < <http://www.sossuinos.com.br/Tecnicos/info158.htm>>.

Acesso em: 09 ago 2019.

De acordo com CECCHI (2003) teor de umidade (mc) é:

“A medida da quantidade total de água contida num alimento (água total), e é geralmente expresso como uma porcentagem (%) do peso total. É uma das medidas analíticas mais importantes, sendo utilizada no processamento e testes de produtos alimentícios, tendo importância direta para: processador e consumidor, qualidade e estabilidade do alimento, uniformidades de resultados, valor nutritivo e especificações de padrões de identidade e qualidade do produto”.

Os mais altos índices de contaminação por micotoxinas são encontrados em alimentos provenientes de regiões tropicais e semitropicais, onde o clima favorece o desenvolvimento de fungos toxigênicos (IAMANAKA et al., 2010).

2.2.2 Métodos de determinação de micotoxinas

As metodologias analíticas para determinação de micotoxinas em alimentos geralmente são compostas pelas etapas de extração, limpeza, separação, detecção, quantificação e confirmação (SCOTT, 1991). As etapas vão diferir dependendo dos equipamentos, reagentes disponíveis e dos requerimentos analíticos (sensibilidade, exatidão, precisão, tempo de análise

e custo). O desempenho dos métodos analíticos também pode ser influenciado pela matriz do alimento, ou seja, pela composição química do alimento. Portanto, um grande número de métodos para triagem, inspeção e controle de micotoxinas em alimentos tem sido proposto (TEIXEIRA, 2008).

- Extração

As micotoxinas e seus metabólitos são solúveis em misturas de solventes orgânicos polares: acetonitrila (ACN) ou metanol (MeOH) com água. Após agitação, os extratos são filtrados e analisados com ou sem limpeza prévia.

Os principais métodos de extração utilizados para análise de micotoxinas são: extração líquido-líquido, extração por fluido supercrítico e extração em fase sólida. A extração líquido-líquido é baseada na diferença de solubilidade das toxinas em fase aquosa e em solventes orgânicos. Na extração com fluido supercrítico é utilizado um fluido, como o CO₂ por exemplo, para extrair o composto da matriz. Esta técnica não é tão adequada para análises de rotina devido ao seu elevado custo. Na extração em fase sólida a toxina fica retida em cartuchos preenchidos com diversos tipos de materiais, sílica gel, fase reversa, troca iônica, carvão ativado e anticorpos específicos para cada micotoxina, como é o caso das colunas de imunoafinidade, técnica mais largamente utilizada atualmente (IAMANAKA et al., 2010).

- Limpeza e purificação

Nesta fase são usados vários métodos como extração em fase sólida, colunas de limpeza multifuncionais e colunas de imunoafinidade (IACs), sendo as últimas as mais utilizadas. Quando o extrato aquoso da amostra é aplicado na IAC, as moléculas do analito ligam-se aos anticorpos presos a um material de suporte orgânico. Antes da lavagem, desnaturam-se os anticorpos com solventes orgânicos puros com o objetivo de desacoplar as toxinas, sendo estas eluídas em solvente orgânico. No entanto, para um melhor aproveitamento do método e obtenção de melhores resultados, há quem associe a este, uma coluna de carvão alumina-celite (LI et al., 2012).

- Detecção e quantificação

Os principais métodos de separação para análise de micotoxinas são cromatografia de camada delgada, cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa. A cromatografia de camada delgada é uma técnica simples e barata, na qual é possível analisar qualitativamente vários compostos

concomitantemente, e pode ser utilizada também como método semi-quantitativo. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas é uma técnica recente e é considerada atualmente, referência na análise de micotoxinas. Nesta técnica, não há necessidade da limpeza da amostra e várias micotoxinas podem ser analisadas simultaneamente (IAMANAKA et al., 2010).

2.2.3 Legislação para micotoxinas

A Organização mundial de Saúde (OMS), em colaboração com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), é responsável por avaliar os riscos para as pessoas das micotoxinas - através da contaminação dos alimentos - e por recomendar proteção adequada. As avaliações de risco de micotoxinas em alimentos feitas pelo Comitê Conjunto de Especialistas da FAO/OMS sobre Aditivos Alimentares (JECFA) são usadas pelos governos e pela Comissão do *Codex Alimentarius* (o órgão intergovernamental de definição de padrões de alimentos) para estabelecer níveis máximos em alimentos ou fornecer outros aconselhamentos sobre gestão de risco para controlar ou prevenir a contaminação. Os padrões do Codex são a referência internacional para suprimentos nacionais de alimentos e para o comércio de alimentos, para que as pessoas em todos os lugares possam ter certeza de que os alimentos comprados atendem aos padrões acordados de segurança e qualidade, independentemente de onde foram produzidos (WHO, 2018).

O JECFA ou grupos *ad hoc* de especialistas científicos da FAO/OMS consistem em especialistas internacionais independentes que realizam revisões científicas de todos os estudos disponíveis e outros dados relevantes sobre micotoxinas específicas. O resultado de tais avaliações de risco à saúde pode ser um nível máximo admissível de tolerância (exposição) ou outra orientação para indicar o nível de preocupação com a saúde (como Margem de Exposição), incluindo orientação sobre medidas de gerenciamento de risco para prevenir e controlar a contaminação, e sobre os métodos analíticos e atividades de monitoramento e controle. Essas ingestões diárias toleráveis são usadas por governos e gestores de risco internacionais, como a Comissão do Codex Alimentarius, para estabelecer níveis máximos de micotoxinas nos alimentos (WHO, 2018).

No continente europeu, 39 países, representando 99% da população europeia, apresentam legislações para a regulação de micotoxinas em alimentos e rações. Comparada a outras regiões do mundo, a Europa dispõe da mais completa e detalhada legislação sobre micotoxinas em alimentos. No Brasil, a Resolução número 7, de 18 de fevereiro de 2011 da

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe sobre limites máximos tolerados (LMTs) de micotoxinas em alimentos prontos para oferta ao consumidor e em matérias-primas (BRASIL, 2011).

Uma grande limitação atual no que diz respeito ao controle de qualidade e segurança das micotoxinas é a de que a legislação menciona apenas o controle das micotoxinas precursoras e ainda não considera as formas modificadas das micotoxinas. Isto se deve, em parte, à falta de conhecimento sobre as reais condições de formação destes compostos, que dependem do alimento e do seu processamento, e quais os seus efeitos toxicológicos potenciais (FREIRE e SANT'ANA, 2018).

Os alimentos suscetíveis a estarem contaminados têm de ser objeto de controles regulares. Dessa forma, conhecer a extensão dessa contaminação poderá fornecer subsídios para os diversos segmentos envolvidos com a produção, utilização e importação de alimentos, bem como a fiscalização e pesquisa, sempre visando garantir ao consumidor final a possibilidade de ter produtos de melhor qualidade (CALORI-DOMINGUES et al., 2007).

2.3 Aflatoxina (AFL)

As AFLs estão entre as micotoxinas mais tóxicas e por isso mais amplamente estudadas. São conhecidas desde 1960, quando mais de 100 mil perus morreram na Inglaterra após ingerirem ração contendo amendoim importado da África e América do Sul. A partir da ração que causou a morte dos animais, foram isolados *Aspergillus flavus* e uma toxina produzida por esse fungo, a qual foi designada aflatoxina (toxina do *Aspergillus flavus* – A-flatoxina). Posteriormente foi verificado que *A. parasiticus* e *A. nomius* e outras espécies de *Aspergillus* também produzem AFLs (FIB, 2009).

O Brasil, devido à prevalência de clima tropical, apresenta condições ideais para o desenvolvimento desses fungos. O *Aspergillus* sp. se desenvolve em temperatura que varia de 25 a 30°C, mas tolera temperaturas na faixa de 12 a 45°C, e umidade relativa entre 83 a 85% (LAMARDO et al., 2006, YU et al., 2005). Além disso, observa-se ainda no país, a utilização de práticas agrícolas inadequadas de plantio, colheita, secagem, transporte e armazenamento de cereais e grãos, originando produtos trincados e quebrados que favorecem a entrada e a contaminação de fungos toxigênicos (OLIVEIRA et al., 2006, FRANCISCATO et al., 2006).

As AFLs mais comumente produzidas por *A. flavus* são aflatoxinas B1 (AFB1) e B2 (AFB2), enquanto que *A. parasiticus* e *A. nomius*, produzem aflatoxinas G1 (AFG1) e G2 (AFG2), além de AFB1 e AFB2. A AFB1 é particularmente importante, pois é o composto natural hepatocarcinogênico mais tóxico e potente já caracterizado, sendo classificado como

carcinógeno humano do grupo 1 pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (BAQUIÃO et al., 2012; IARC, 2016).

Quimicamente, as AFLs são cumarinas altamente substituídas e, no mínimo, 18 toxinas intimamente relacionadas são conhecidas. A toxicidade das mais potentes decresce na seguinte ordem: B1 > M1 > G1 > B2 > G2. Quando observadas sob luz ultravioleta (UV), essas micotoxinas fluorescem nas seguintes colorações: B1 e B2 – azul, G1 – verde, G2 – verde azulada e M1 – azul violeta (FIB, 2009).

Estruturalmente, as AFLs são compostos heterocíclicos oxigenados, onde as AFG1 e AFG2 se diferem quimicamente das AFB1 e AFB2 pela presença de um anel 3-lactona, no lugar do anel ciclopentanona, além da presença de uma dupla ligação entre o C8 e C9, encontrada na forma de um éter vinil no anel terminal furano nas AFB1 e AFG1, mas que não são encontrados em AFB2 e AFG2 (Figura 8) (JAIMEZ et al., 2000).

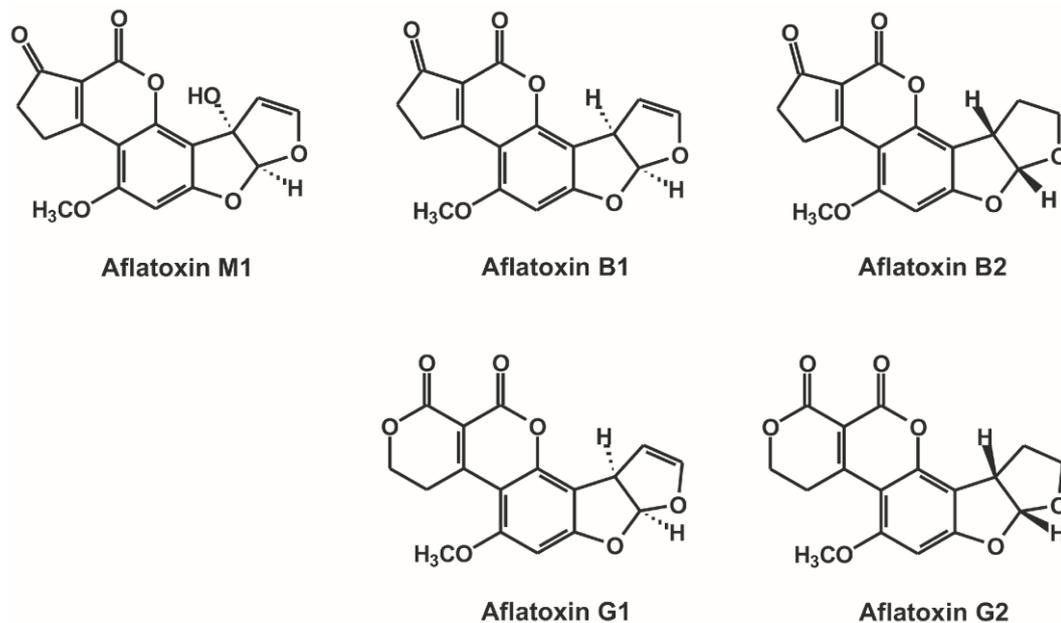


Figura 8: Estrutura química das principais aflatoxinas.
Fonte: POÓR et al. (2017).

Culturas que são frequentemente afetadas por *Aspergillus spp.* incluem cereais (milho, sorgo, trigo e arroz), sementes oleaginosas (soja, amendoim, girassol e algodão), especiarias (pimenta, pimenta preta, coentro, açafrão e gengibre) e nozes (pistache, amêndoa, noqueira, coco e Castanha-do-Brasil). As toxinas também podem ser encontradas no leite de animais alimentados com ração contaminada, sob a forma de aflatoxina M1 (AFM1). Grandes doses de AFL podem levar a intoxicação aguda (aflatoxicose) e podem ser fatais, geralmente por danos ao fígado. As AFLs também mostraram ser genotóxicas, o que significa que podem

danificar o DNA e causar câncer em espécies animais. Há também evidências de que podem causar câncer de fígado em humanos (WHO, 2018).

2.3.1 Aflatoxinas em castanha-do-Brasil

Em castanha-do-Brasil há estudos sobre a ocorrência de AFLs em que tanto a casca quanto a amêndoa demonstraram ser passíveis de contaminação e que o maior risco está nas frações defeituosas, como amêndoas e cascas deterioradas (VARGAS et al., 2011). Devido às condições ambientais na região Norte, como temperatura $>30^{\circ}$ C e UR% $>60\%$, observa-se que mesmo após a desidratação da amêndoa, o fungo pode produzir as AFLs e as castanhas contaminadas em qualquer etapa do seu processamento, o que se torna questão de saúde pública, uma vez que a ingestão desses metabólitos pode causar efeitos adversos à saúde (BANDO et al., 2007; CALDAS et al., 2002).

Estudos avaliaram AFL em castanha-do-Brasil tanto no produto cru (castanha não processada) quanto no processado (seca) como demonstram as tabelas a seguir.

CASTANHA PROCESSADA						
Origem	Número de Amostras	Quantidade Amostras (kg)	Produto	AFL Total ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Método	Autores
Área de expedição	3	15	Amêndoa	5.616	LCMS/MS ^d	De Mello Robert e Scussel (2007)
Manaus (AM)	27	2-5	Amêndoa	1.1	LCMS/MS	Pacheco e Scussel (2007)
Belém (PA) (Coletores) (Mercado de rua) (Supermercado)	48	0,3	Amêndoa	471.69 4.03 7.01	CLAE ^b	Lima et al. (2012)
Manaus e Belém (Mercado de rua) São Paulo (Supermercados)	95	2	Amêndoa	NI	CLAE	Iamanaka et al. (2014)
Região Amazônica (Mercado de rua) (Supermercado)	53 21	NI	Amêndoa	6.26 0.24	CCD ^c	Calderari et al. (2013)
Brasil (NI) ^a	NI ^a	1	Amêndoa Casca Amêndoa Casca	7.7 13.6 14.9 15	LCMS/MS	Pacheco e Martins (2013)

^a Não informado; ^b CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência; ^c Cromatografia em Camada Delgada; ^d LC/MS-MS: Cromatografia Líquida com Espectrômetro de Massa.

Tabela 2: Avaliação do grau de contaminação por aflatoxinas em castanhas processadas.

CASTANHA NÃO PROCESSADA								
Origem	Número de Amostras	Quantidade de Amostras (kg)	Produto	AFL Total ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Método	Autores		
Acre	25	20	Amêndoa	856.6	CLAE ^c	Reis et al. (2012)		
	25	20	Casca	69.75				
Amazonas	25	20	Amêndoa	32.6				
	25	20	Casca	8.6				
Amapá	25	20	Amêndoa	28.4				
	25	20	Casca	11.25				
Pará	25	20	Amêndoa	4.3			CLAE ^c	Baquião et al. (2012)
	25	20	Casca	3.05				
Itacoatiara (AM)	20	20	Amêndoa	ND ^b				
	20	20	Casca	ND ^b				
Floresta Amazônica	56	NI ^a	Amêndoa	0.70	CCD ^d	Calderari et al. (2013)		

^a Não informado; ^b Não detectado; ^c CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência; ^d Cromatografia em Camada Delgada.

Tabela 3: Avaliação do grau de contaminação por aflatoxinas em castanhas não processadas.

No Brasil, por meio da Resolução n° 7, de 18/02/2011 da ANVISA, estabeleceu-se para a AFL total em castanha-do-Brasil sem casca um limite de $10 \mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$ para consumo humano direto e $15 \mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$, para processamento, sendo incluídos também limites de $20 \mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$ para a castanha-do-Brasil com casca (BRASIL, 2011). Por outro lado, a União Europeia estabeleceu limite de $5 \mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$ para AFB1 e $10 \mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$ para AFL total em castanha-do-Brasil para consumo humano direto e de $8 \mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$ para AFB1 e $15 \mu\text{g}.\text{kg}^{-1}$ para AFL total em castanha-do-Brasil para processamento futuro (EUROPEAN UNION COMMISSION, 2010).

A prevenção da contaminação de alimentos por AFLs nem sempre é efetiva ou praticável, especialmente em países de clima tropical, como o Brasil, onde as condições de temperatura são favoráveis o ano todo contribuindo para que os fungos aflatoxigênicos cresçam e produzam toxinas (SYLOS, 2006). Desta forma é essencial o controle em caráter preventivo para diminuir a contaminação da castanha por fungos e a produção da toxina (PACHECO, 2007), o que foi preconizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da Instrução Normativa n° 11, de 22 de março de 2010 (BRASIL, 2010), com as medidas para a prevenção e redução da contaminação por aflatoxinas na cadeia produtiva da castanha-do-Brasil.

Segundo Arrus et al. (2005) uma importante estratégia para evitar AFL em castanha-do-Brasil é a prevenção do crescimento do fungo após a coleta do produto mediante controle adequado de temperatura e UR do ar durante o armazenamento. Nunes et al. (2003) complementam ainda que o fungo pode não estar presente no produto, mas suas micotoxinas podem permanecer, pois estas não são facilmente eliminadas.

A redução do tempo de permanência do ouriço (fruto da castanheira) após sua queda na floresta e a secagem adequada do produto também são medidas citadas como de fundamental importância para reduzir a incidência dos fungos produtores de AFLs (PEREIRA et al., 2002). Mas, de acordo com Pacheco (2013), nem mesmo a secagem pode garantir a não contaminação por AFL devendo, portanto, ser feito controle rigoroso para evitar o crescimento dos fungos, principalmente na sua coleta na floresta para evitar que ocorra a contaminação do produto já no início da cadeia produtiva.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os parâmetros de umidade (mc) e atividade de água (a_w) em castanhas processadas e não processadas obtidas em uma planta de beneficiamento no estado do Amazonas, Brasil, durante as safras de 2019 e 2020.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar a atividade de água e o teor de umidade das amostras;
- Verificar a presença e quantificar AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 em amostras processadas e não processadas;
- Analisar estatisticamente os resultados obtidos.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, T. P.; NICOLETI, J. F. **Influência das variáveis de processo sobre a secagem osmoconvectiva de pimentão verde.** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. 10, n. 1, p. 2022-2037. Ponta Grossa, 2016.

ANDRADE, P. D.; HOMEM DE MELLO, M.; FRANÇA, J. A.; CALDAS, E. D. **Aflatoxins in food products consumed in Brazil: a preliminary dietary risk assessment.** Food Additives & Contaminants: Part A, [s.l.], v. 30, n. 1, p.127-136, jan. 2013.

ANFOSSI, L., GIOVANNOLI, C., BAGGIANI, C. **Mycotoxin detection.** Current Opinion in Biotechnology. 37, 120–126. 2016.

AOAC. International Association of Official Analytical Chemists International. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 20 th ed., 2016.

APIZ. Associação do povo indígena Zoró. In: **Boas práticas de coleta, armazenamento e comercialização da castanha do Brasil.** 2ª edição. Cuiabá – Mato Grosso. Defanti Editora, 2009.

ASTROVIZA, B. A.; SUÁREZ, S. M. **Micotoxinas y Câncer.** Revista Cubana de Investigación Biomédica v. 2 n° 4, p 54-59, 2005.

BANDO, E.; GONÇALES, L. N.; TAMURA, N. K.; JUNIOR, M. M. **Biomarcadores para avaliação da exposição humana às micotoxinas.** J Bras Patol Med Lab, Maringá, v. 43, n. 3, p.175-180, jun. 2007.

BAQUIÃO, A. C.; ZORZETE, P.; REIS, T. A.; ASSUNÇÃO, E.; VERGUEIRO, S.; CORREA, B. **Mycoflora and mycotoxins in field samples of Brazil nuts.** Food Control, 28(2), 224-229. 2012.

BENNET, J. W.; KLICH, M. **Mycotoxins.** Clinical Microbiology Reviews, Washington, DC, v.16, n. 3, p. 497-516, 2003.

BITENCOURT, M. A. F. **Isotermas de dessorção, secagem e caracterização nutricional das amêndoas das castanha-do-Brasil da região Amazônica.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, março de 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Especificações para padronização, classificação e comercialização interna da castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**. Portaria Nº 846, de 08 de novembro de 1976. Diário Oficial da União de 19/11/1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Estabelece os critérios e procedimentos para o controle higiênico-sanitário da castanha-do-brasil e seus subprodutos, destinados ao consumo humano no mercado interno, na importação e na exportação, ao longo da cadeia produtiva**. Instrução Normativa nº11 de 22 de março de 2010. Diário Oficial da União, 23/03/2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 07, de 18 de fevereiro de 2011**. Dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 2011.

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

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005**. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. 2005.

CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N. **Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana**. Revista de Saúde Pública, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 319-323, mar. 2002.

CALDERARI, T. O.; **Biodiversidade de fungos aflatoxigênicos e aflatoxinas em castanha do Brasil**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. 2011.

CALDERARI, T. O.; IAMANAKA, B. T.; FRISVAD, J. C.; PITT, J. I.; SARTORI, D.; PEREIRA, J. L.; & TANIWAKI, M. H. **The biodiversity of *Aspergillus* section *Flavi* in Brazil nuts: from rainforest to consumer**. International Journal of Food Microbiology, 160(3), 267-272. 2013.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; ALMEIDA, R. R. de; TOMIWAKA, M. M.; GALLO, C. R.; GLÓRIA, E. M. da; DIAS, C. T. S. **Ocorrência de Desoxivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 27(1): 181-185, jan-mar. 2007.

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.

CARVALHO, M. S. **Cinética de secagem, conservação e propriedades físico-químicas de amêndoas de macaúba.** Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) apresentada à Universidade Federal de Viçosa. 74 f, 2018.

CAST, COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. **Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems.** Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa (Task Force Report, n 130). 2003.

CASTRO, D. A. **Repartição de nutrientes e selênio na castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*).** 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia e Zootecnia) apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso, 2017.

CE - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. **Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, nº 1881/2006 of 19 Dec. 2006.** Off. J. Eur. Union 364, 5–24. 2006.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2. ed. Campinas: editora da Unicamp, p. 207. 2003.

COSTA, A. K. F. **Fungos associados à castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl) e ao amendoim (*Arachis hypogaea* L.) comercializados em Fortaleza (Ceará).** Rev. Ciênc. Agron, Fortaleza, v. 40, n. 3, p.455-460, set. 2009.

COSTA, D. A. da. **Qualidade da Castanha do Brasil após o uso de secador de ar por convecção natural e armazém com ventilação.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) apresentada à Universidade Federal do Acre, 2012.

DE MELLO, F. R.; SCUSSEL, V. M. **Characteristics of in-shell Brazil nuts and their relationship to aflatoxin contamination: criteria for sorting.** Journal of agricultural and food chemistry, 55(22), 9305-9310. 2007.

DE SOUZA, J. M. L.; DA CUNHA CARTAXO, C. B.; LEITE, F. M. N.; SOUZA, L. M. **Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da Castanha do Brasil.** 2004.

ENRÍQUEZ, G. **Amazônia - Rede de Inovação de Dermocosméticos: Sub-rede de dermocosméticos na Amazônia a partir do uso sustentável de sua biodiversidade com**

enfoques para as cadeias produtivas da castanha-do-pará e dos óleos de andiroba e copaíba. Parceria Estratégica. Brasília, DF, v.14. n. 28., p. 51-118, 2009.

FERNANDES F. **Potencialidades e limites da cadeia de valor da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) no município de Manicoré, sul do Amazonas.** 2016. Disponível em: <http://www.fundovale.org/wp-content/uploads/2017/10/6_castanha_manicore.pdf> Acesso em: 15 set 2019.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **A desidratação na conservação dos alimentos.** n. 38 – 2016. Disponível em: <https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201607/2016070041261001469734800.pdf> Acesso em: 11 set 2020.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **As micotoxinas.** Food Ingredients Brasil n. 7., p. 32-40, 2009.

FOOD SAFETY BRAZIL. **A diferença entre Atividade de Água (Aw) e Teor de Umidade nos alimentos.** 18 setembro 2016. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/diferenca-entre-atividade-de-agua-aw-e-o-teor-de-umidade-nos-alimentos/>>. Acesso em: 09 jul 2019.

FONSECA, H. **Os fungos e a deterioração de alimentos.** Boletim Técnico No. 4. ESALQ-USP / FONSECA & CIA. S/C LTDA. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br>>. Acesso em: 25 julho 2019.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S. T. A.; SANTURIO, J. M.; WOLKMER, P.; MACIEL, R. M.; PAULA, M. T.; GARMATZ, B. C.; COSTA, M. M. **Concentrações séricas de minerais e funções hepática e renal de frangos intoxicados com aflatoxina e tratados com montmorilonita sódica.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.41, n.11, p.1573-1577, MESES, 2006.

FREIRE, L.; SANT'ANA, A. **Modified Mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence and toxic effects.** Food and Chemical Toxicology. Volume 111, p. 189-205, January 2018.

FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. **Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: A review.** Drug Metabolism Reviews, v.42, p.612-620, 2010.

GARCIA, D.; RAMOS, A.J.; SANCHIS, V.; MARÍN, S. **Predicting mycotoxins in foods: a review.** Food Microbiol. 26 (8), 757–769. 2009.

GARCIA, D. M. **Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

GOMES, D. **Diário com a Natureza.** Disponível em: <<http://denisegomesludwig.blogspot.com.br>> Acesso em: 05 de maio 2019. 2015.

HAMEED, M. R., KHAN, M. Z., KHAN, A., JAVED, I. **Ochratoxin induced pathological alterations in broiler chicks: effect of dose and duration.** Pak. Vet. J. 33, 145–149. 2013.

HOMMA, A. K. **Castanha-do-Brasil: Por que o Brasil deixou de ser o maior produtor mundial de castanha-do-Brasil.** 2016. Disponível em: <<https://todafruta.com.br/por-que-o-brasil-deixou-de-ser-o-maior-produtor-mundial-de-castanha-do-brasil/>> Acesso em: 10 set 2020.

HUSSEIN, S. H., BRASEL, J. M. **Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals.** Toxicology v.167, p.101-134, 2001.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. **Micotoxinas em alimentos.** Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife, vol. 7, p. 138-161, 2010.

IAMANAKA, B. T.; NAKANO, F.; LEMES, D. P.; FERRANTI, L. S.; TANIWAKI, M. H. **Aflatoxin evaluation in ready-to-eat brazil nuts using reversed-phase liquid chromatography and post-column derivatisation.** Food Additives & Contaminants: Part A, 31(5), 917-923. 2014.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Agents classified by the IARC Monographs.** Volumes 1–116. 2016.

JAIMEZ, J.; FENTE, C. A.; VAZQUEZ, B. I.; FRANCO, C. M.; CEPEDA, A.; MAHUZIER, G.; PROGNON, P. **Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis.** Journal of Chromatography A, 882(1-2), 1-10. 2000.

KABAK, B. **The fate of mycotoxins during thermal food processing.** J. Sci. Food Agric. 89, 549–554. 2009.

KLUCZKOVSKI, A. M.; SCUSSEL, V. M. **Gerenciamento de risco da Castanha-do-Brasil: aflatoxinas e selênio.** 1ª edição. Governo do Estado do Amazonas. Fundação de Amapro à Pesquisa do Amazonas - FAPEAM, 2015.

LABUZA, T. P.; TANNEMBAUM, S. R.; KAREL, M. **Water content and stability of lowmoisture and intermediate-moisture foods.** Food Technology, p.543-550, 1970.

LABUZA, T. P. **The effect of water activity on kinetics of food deterioration.** Food Technology, 39 (4): 36-41. 1980.

LAMARDO, L. C. A.; SHUNDO, L.; NAVAS, S. A.; SABINO, M. **Bioflavonóides e quercetina: procedimento analítico por cromatografia em camada delgada para determinação de aflatoxinas.** Boletim do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v.16, n.1, p.22-23, jan/jun, 2006.

LIMA, L W.; STONEHOUSE, G. C.; WALTERS, C.; EL MEHDAWI, A F.; FAKRA, S. C.; PILON-SMITS, E. A. H. **Selenium accumulation, speciation and localization in Brazil nuts (*Bertholletia excelsa* H.B.K.).** Plants (Basel), v.8, n.8, p.289. 2019.

LOPES, P. R. S.; NETO, R.; MALLMANN, J.; LAZZARI, C. A.; PEDRON, R.; ARAÚJO, F. DE; VEIVERBERG, C. A. **Crescimento e alterações no fígado e na carcaça de alevinos de jundiá alimentados com dietas com aflatoxinas.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.40, n.10, p.1029- 1034, 2005.

MOODLEY, R.; KINDNESS, A.; JONNALAGADDA S. B. **Elemental composition and chemical characteristics of five edible nuts (almond, Brazil, pecan, macadamia and walnut) consumed in Southern Africa.** Journal of Environmental Science and Health, New York, v. 42, p. 585-591, 2007.

MORAES, M. L. B. **Comportamento da pressão estática e da frente de secagem em uma coluna de sementes de arroz.** Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) apresentada à Universidade Federal de Pelotas. 50 f, 2000.

MÜLLER, C. H.; FIGUEIREDO, F. J. C.; KATO, A. K.; CARVALHO, J. E. U. de. **A cultura da castanha-do- Brasil.** Brasília: EMBRAPA. Coleção Plantar, v. 23, 65 p. 1995.

OLIVEIRA, C. A. F.; SEBASTIÃO, L. S.; ROSIM, R. E.; FAGUNDES, H.; FERNANDES, A. M. **Ocorrência simultânea de aflatoxina e ácido ciclopiazônico em rações para vacas leiteiras.** Revista Analytica, São Paulo, v.5, n.24, p.56-58, Agosto/Setembro 2006.

PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. **Castanha-do-Brasil: da floresta tropical ao consumidor.** Florianópolis: Editorgraf, 2006.

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 Journal, 2(3), 295-304. 2009.

PACHECO, A. M.; MARTINS, M. **Brazil nut sorting for aflatoxin prevention: a comparison between automatic and manual shelling methods.** Food Science and Technology, v. 33, n. 2, p. 369-375, 2013.

PEDROSA, K., BORUTOVA, R. **Synergistic effects of mycotoxins discussed.** Feedstuffs, 83(19), 1–3. 2011.

PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P.; PRADO, G. **Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.** Boletim do CEPPA, Curitiba, v.20, n.1, p.141- 156. Jan./Jun., 2002.

POÓR, M.; BÁLINT, M.; HETÉNYI, C.; GÖDÉR, B.; KUNSÁGI-MÁTÉ, S.; KŐSZEGI, T.; LEMLI, B. **Investigation of non-covalent interactions of aflatoxins (B1, B2, G1, G2, and M1) with serum albumin.** Toxins, 9(11), 339. 2017.

REIS, T. A.; OLIVEIRA, T. D.; BAQUIÃO, A. C.; GONÇALVES, S. S.; ZORZETE, P.; CORRÊA, B. **Mycobiota and mycotoxins in Brazil nut samples from different states of the Brazilian Amazon region.** International journal of food microbiology, 159(2), 61-68. 2012.

RIBEIRO, M. S. **Tecnopolítica em laboratórios da Embrapa e florestas de castanha.** Revista de Antropologia da UFSCar, R@U, 10 (1), 80-104. 2018.

RICHARD, J. L. **Some major mycotoxins and their mycotoxicoses - an overview.** Int. J. Food Microbiol. 119, 3–10. 2007.

RODRIGUES, P.; VENÂNCIO, A.; KOZAKIEWICZ, Z.; LIMA, N. **A polyphasic approach to the identification of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Portuguese almonds.** Int. J. Food Microbiol. 129, 187-193,2009.

SALINAS, R. D. **Alimentos e nutrição: Introdução à Bromatologia.** Artmed, 3. ed., p.280, Porto Alegre, 2002.

SCOLES, R.; GRIBEL, R.; **Human Influence on the Regeneration of the Brazil Nut Tree (*Bertholletia excelsa* Bonpl., Lecythidaceae) at Capanã Grande Lake, Manicoré, Amazonas, Brazil.** Human Ecology, 43: 843-854, 2015.

SCOTT, P. M. Methods of analysis for mycotoxins – an overview. In: ROSSEL, J. B.; PRITCHARD, J. L. R. **Analysis of oilseeds, fats and fatty foods**. Elsevier, 141-184, 1991.

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R.; SOUZA, J. M. L. **Influence of Brazil nut processing on the quality of nuts**. Science and agro-technology, v. 34, n.2, p. 445-450. 2010.

SILVA, O. S.; TASSI, E. M. M.; PASCOAL, G. B. **Ciência dos alimentos: Princípios de Bromatologia**. 1. ed., p.248. 2016.

SOUSA, W. P.; FERREIRA, L. A. **Os sistemas agrários com castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) na região sul do Estado do Amapá**. Ciência e Desenvolvimento, Belém, v.2, n.3, p.217-246, 2006.

SOUZA, S. V. C. **Validação intralaboratorial de método para determinação de aflatoxina M1 em leite por cromatografia em camada delgada**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 1, n. 23, p.213-220, dez. 2003.

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

TEIXEIRA, A da S. **Adequacy and presentation of parameters of intralaboratorial validation of an assay for the Aflatoxin in brazil nut through the High Performance Liquid Chromatography**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

TONINI, E.; KAMINSKI, P. M.; COSTA P.; SCHWNGBER, L. A. M. **Estrutura populacional e produção de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* Bompl.) e Andiroba (*Carapa* sp.) no sul do Estado de Roraima**. Anais do 1º Seminário do Projeto Kamukaia - Manejo sustentável de produtos florestais não madeireiros na Amazônia. EMBRAPA Acre, 2008.

TONINI, H.; PEDROZO, C. A. **Variações anuais na produção de frutos e sementes de Castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl., Lecythidaceae) em Florestas nativas de Roraima**. Revista Árvore, Viçosa-MG, v.38, n.1, p.133-144, 2014.

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. **Analytical methods for determination of mycotoxins: a review**. Anal. Chim. Acta 632, 168–180. 2009.

VARGAS, E. A.; SANTOS, E. A.; WHITAKER, T. B.; SLATE, A. B. **Determination of aflatoxin risk components for in-shell Brasil nuts.** Food Add. Contam. Part A. 28, 1242-1260, 2011.

VIEIRA, S. L. **Micotoxinas e produção de ovos.** In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MICOTOXINAS E MICOTOXICOSE EM AVES. p.65-80. Curitiba: APINCO, 1995.

VILLELA, F.A.; SILVA, W. R. **Efeitos da secagem intermitente sobre a qualidade de sementes de milho.** An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz. Vol. 48, p.185-209, 1991.

WADT, L. H. de O.; KAINER, K. A. **Domesticação e melhoramento de castanheira.** In: BORÉM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (Ed.). Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, cap. 15. p. 297-317. 2009.

WADT, L. H. O.; KAINER, K. A.; GOMES, D. A. S. **Population structure and nut yield of a *Bertholletia excelsa* stand in south westerns Amazonian.** Forest ecology and management. v.211 n.3 p.371-384, 2005.

WADT, L. H. O.; SILVA, A. C. C. **Remoção de sementes de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* B.H.K.) em floresta primária do sudoeste da Amazônia.** Anais do 1º Seminário do Projeto Kamukaia - *Manejo sustentável de produtos florestais não madeireiros na Amazônia.* EMBRAPA Acre, 2008.

WHO. World Health Organization. **Selenium in Drinking-water.** Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva, 2011.

WHO. World Health Organization. **Mycotoxins.** Newsroom: Fact Sheets. Geneva. 9 May, 2018.

YANG, J. **Brazil nuts and associated health benefits: a review.** LWT – Food Science and Technology, London, v. 42, n. 10, p. 1573—1580, 2009.

YOGENDRARAJAH, P.; JACXSENS, L.; DE SAEGER, S.; DE MEULENAER, B. **Co-occurrence of multiple mycotoxins in dry chilli (*Capsicum annum* L.) samples from the markets of Sri Lanka and Belgium.** Food control. 46, 26–34. 2014.

YU, J.; CLEVELAND, T. E.; NIERMAN, W. C.; BENNETT, J. W. ***Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases.** Revista Iberoamericana de Micologia, Bilbao, v.22, p.194-202, 2005.

ZINGRA, A. F. C. **Castanheiros e Castanhais da Bacia do Rio Unini, Barcelos, AM.** Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia) – Universidade Federal do Amazonas. Manaus. 2015.

ZHU, R.; ZHAO, Z.; WANG, J.; BAI, B.; WU, A.; YAN, L.; SONG, S. **A simple sample pretreatment method for multi-mycotoxin determination in eggs by liquid chromatography tandem mass spectrometry.** J. Chromatogr. A 1417, 1–7. 2015.

5 ARTIGO

**A SECAGEM NO PROCESSAMENTO DA CASTANHA-DO-BRASIL COMO
FERRAMENTA DE PREVENÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS**

A SECAGEM NO PROCESSAMENTO DA CASTANHA-DO-BRASIL COMO FERRAMENTA DE PREVENÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR AFLATOXINAS

5.1 Resumo

A secagem é fundamental no processamento da castanha-do-Brasil para evitar a contaminação por aflatoxinas que são produzidas por fungos, bem como para prolongar a vida útil do produto. O binômio tempo/temperatura é aplicado para garantir a eficiência das etapas de secagem. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros de umidade (mc) e atividade de água (a_w) em castanhas processadas e não processadas obtidas em uma planta de beneficiamento no estado do Amazonas, Brasil, durante as safras de 2019 e 2020. Foram observadas diferenças em relação ao a_w entre as safras e nas amostras processadas e não processadas. No entanto, para mc , não foram observadas diferenças entre anos ou interação entre fatores. Amostras processadas de 2019 e 2020 apresentaram redução significativa no teor de umidade quando comparadas às amostras não processadas e isso pode ser devido a alguma modernização no processo de secagem e a matéria-prima armazenada em melhores condições. Concluimos, portanto, que o binômio tempo/temperatura tem impacto direto na segurança do produto e deve ser aplicado desde o momento da coleta da matéria-prima até o início do processo industrial para garantir a manutenção econômica da cadeia produtiva.

Palavras-chave: *Bertholletia excelsa*, teor de umidade, atividade de água, boas práticas.

5.2 Abstract

Drying is fundamental in the processing of Brazil nuts to prevent contamination by aflatoxins produced by fungi and to extend the shelf life of the product. In this context, the objective of this work was to evaluate the parameters of Moisture content (mc) and water activity (a_w) in processed and non-processed nuts of a processing plant in the State of Amazonas-Brazil in 2019 and 2020 harvests. There was differences between years and processed and non-processed samples in a_w and no differences between years or interaction between factors were observed in mc. Processed samples from 2019 and 2020 showed a significant reduction in mc content compared to non-processed samples and could be explained by some modernization in drying and better conditions of storage raw material. We conclude that the time/temperature binomial has a direct impact on product safety and should be applied from the collection of raw material beyond the industrial scale for economic maintenance of the production chain.

Keywords: *Bertholletia excelsa*, moisture content, water activity, good practices.

5.3 Introdução

Na região tropical de floresta, a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) é extraída como o principal produto não madeireiro e está ligada a cultura das populações tradicionais da Amazônia na qual seus produtos e subprodutos são utilizados como fonte de alimentação e renda há várias gerações (BERTWELL et al., 2018; RIBEIRO et al., 2018). Nesse contexto é fundamental a conservação das sementes contra agentes tóxicos produzidos por fungos como as aflatoxinas (AFL), agentes cancerígenos que contaminam alimentos.

Em castanha-do-Brasil, o gênero *Aspergillus* é frequentemente isolado e relacionado com a produção de AFL (TANIWAKI et al., 2018; ISMAIL et al., 2018). As aflatoxinas são metabólitos secundários com caráter carcinogênico para humanos e animais (IARC, 2016). Desde 1999-2000 a ocorrência de aflatoxinas na castanha-do-Brasil tornou-se crítica para comercialização, visto que foram relatadas em amostras vendidas em diversos países, incluindo Estados Unidos, Japão, Suécia e Brasil (TANIWAKI et al., 2019).

No esforço de prevenir a contaminação e, conseqüentemente, a exposição da população a esse carcinógeno tóxico, estudos têm testado a aplicação de métodos físicos ou químicos para prevenir sua ocorrência (OLIVEIRA et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020). Embora a castanha do Brasil seja altamente nutritiva com proteínas e antioxidantes e gere benefícios clínicos para o metabolismo humano (REIS et al., 2019; RUSU et al., 2019), devido ao modo artesanal de extração das castanhas na floresta e das inadequadas temperaturas durante o armazenamento e processamento, alguns fungos podem produzir AFL. Vários estudos mencionam que as condições ambientais, como umidade relativa (UR) acima de 70% e temperaturas acima de 30°C, bem como as mudanças climáticas podem afetar a produção de AFL e, conseqüentemente, a qualidade dos alimentos. Como a *Bertholletia excelsa* cresce nessas condições isso também pode ser observado para a castanha-do-Brasil (FUNATSU et al., 2019; MEDINA et al., 2017).

Na cadeia produtiva, existem várias etapas de secagem que representam um desafio devido aos diferentes tamanhos das castanhas, que podem ser classificadas em minúsculas, médias, grandes ou extragrandes (MELLO & SCUSSEL, 2007). A desidratação é utilizada para controlar as características intrínsecas do produto, como teor de umidade (mc) e atividade de água (a_w), além da qualidade sensorial do produto (SILVA et al., 2016) e, assim, prolongar a vida útil. Silva e Marsaioli (2004) relataram que a castanha-do-Brasil *in natura*, apresentou a_w na faixa de 0,79-0,91, ou seja, antes das etapas de secagem. Este intervalo indicaria a

necessidade de intervenção e implementação de melhorias na segurança tecnológica da matéria-prima, visto que a nível internacional o teor de a_w recomendado para evitar a formação de AFL em nozes é $a_w < 0,70$ (CAC, 2010).

Na floresta, a secagem rápida nem sempre é possível, pois as lavouras de castanha-do-Brasil na região amazônica são colhidas no período das chuvas. Além disso, devido à localização das árvores, a logística envolvida no transporte das castanhas para a planta de processamento pode ser complicada. Nas fábricas onde ocorre o processamento, a desidratação ocorre em secadores rotativos ou bandejas (PACHECO e MARTINS, 2013) em que o binômio tempo/temperatura é aplicado para manter o mc em níveis seguros a fim de atender aos padrões legais e preservar as características do produto. Após a colheita, as condições de armazenamento podem introduzir contaminação. As nozes, se armazenadas ao longo do ano, podem representar um risco para a saúde humana devido ao contato próximo com o considerável potencial carcinogênico do AFL. Além disso, o armazenamento inadequado em mercados abertos implica no risco de contaminação de um maior número de pessoas no meio urbano e, conseqüentemente, na possibilidade de aumento de casos de câncer de fígado nesta população (LIMA et al., 2012).

No Brasil, o estado do Amazonas possui várias pequenas agroindústrias com estruturas de produção compactas, em relação às plantas de beneficiamento. São cinco cooperativas, localizadas em diferentes mesorregiões da Amazônia brasileira, como o médio Rio Negro, Alto Solimões, Purus e Madeira. Em 2017, foram responsáveis pela produção de 1.269 toneladas de castanhas, dessas 1.009 toneladas foram comercializadas *in natura* e outras 260 toneladas passaram por processos de desidratação (IDAM, 2017). Nesse contexto, foi realizado um estudo experimental nas dependências de uma dessas cooperativas com o objetivo de validar o processo de desidratação utilizado em duas safras (2019 e 2020), utilizando as variáveis de atividade de água e teor de umidade em relação aos níveis de contaminação de AFL em castanha-do-Brasil.

5.4 Materiais e Métodos

5.4.1 Amostragem

As amostras ($n = 60$) foram coletadas em uma unidade de processamento de castanha-do-Brasil no estado do Amazonas, Brasil, durante as safras de 2019 e 2020. As amostras foram classificadas da seguinte forma: (a) não seca (matéria-prima, coletada logo após a chegada na unidade ou nas instalações de pequena escala do fornecedor) e (b) secas (no final dos processos de secagem). O fluxograma de produção é apresentado na Figura 1.

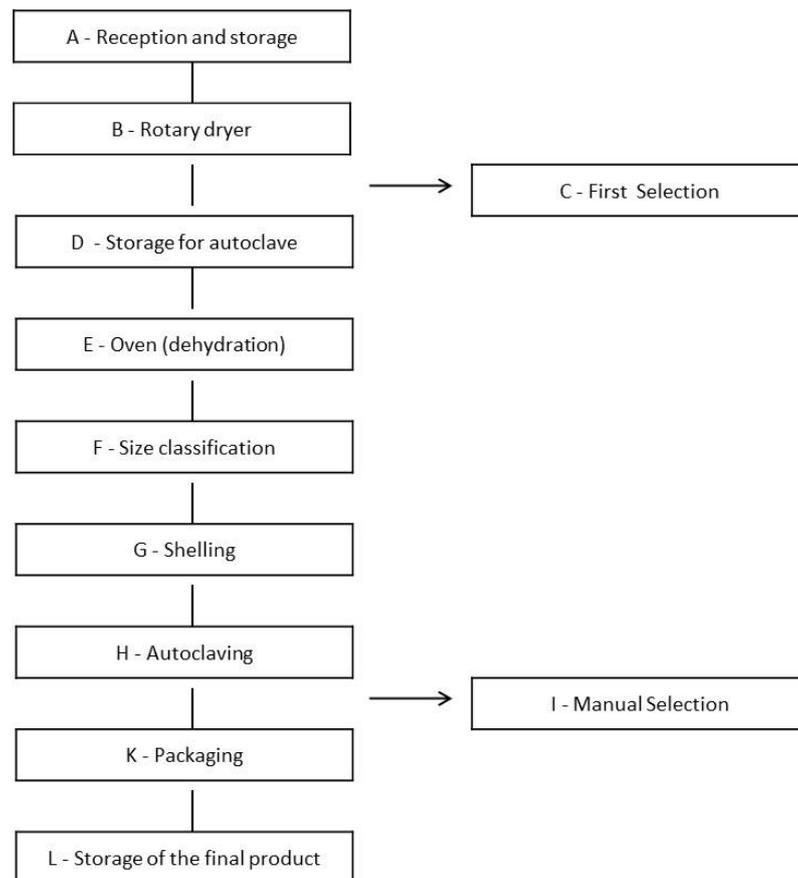


Figura 1. Fluxograma do processamento da castanha-do-Brasil em uma cooperativa da Amazônia brasileira.

5.4.2 Conteúdo de umidade (mc) e atividade de água (a_w)

O mc , conforme determinado pela AOAC (2016), foi obtido por meio de uma balança eletrônica de umidade (SHIMADZU, MOC-120H[®], Kyoto, Japão) e um secador infravermelho, por meio da secagem de cerca de 1 grama da amostra em uma temperatura de 105°C até a perda de toda a umidade. Todas as análises foram realizadas em duplicata e os

resultados foram expressos em média e desvio padrão. A a_w foi verificada com um medidor de atividade de água de bancada (AquaLab série 4TE da DECAGON) em temperatura ambiente (25°C), e utilizado o método do ponto de orvalho. Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados expressos em média e desvio padrão.

5.4.3 Quantificação de aflatoxina (AFL)

Os níveis de AFL foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com a AOAC Official Method (AOAC, 2016). Amostras de 50 gramas foram extraídas com 100 mL de solução de acetonitrila:água (90:10 v/v) e agitados em alta velocidade por 5 minutos com posterior filtragem em papel de filtro. Em seguida, 3 mL do filtrado foi transferido para um tubo de cultura de 10 mL com aplicação em coluna de limpeza MYCOSEP 226 (Romer Labs) para purificação do extrato. As soluções resultantes foram injetadas e quantificadas em CLAE com eluição isocrática de fase móvel acetonitrila, metanol e água ultrapura (1:1:4), coluna Waters X-Terra, 150 x 4,6 mm, a um fluxo de 1,0 mL.min⁻¹, com detector de fluorescência na excitação - 360 nm e emissão - 440 nm; volume de injeção de 50µL; tempo de corrida de 20 minutos. Foram usados três conjuntos de padrões AFL B1, B2, G1 e G2 (Sigma Aldrich). O Limite de Detecção (LOD) e o Limite de Quantificação (LOQ) para cada toxina (AFB1 / AFB2 / AFG1 / AFG2) foram 0,136 / 0,136 / 0,250 / 0,250 e 0,410 / 0,410 / 0,750 / 0,750 µg / kg, respectivamente. O método LOD foi definido por 3 vezes a relação sinal / ruído e LOQ por 6 vezes a relação sinal / ruído. Cinco pontos foram usados para construir uma curva analítica para obter os valores do coeficiente de correlação (R) para LOD e LOQ. Cada ponto correspondeu a uma média de cinco injeções de cada extrato. As recuperações para cada AFL (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2) foram 94,5, 73,5, 97,8 e 99,1%, respectivamente.

5.4.4 Análise estatística

Uma análise ANOVA two-way foi realizada usando o software PAST (versão 4.02) por Hammer et al. (2001) e os fatores (variáveis independentes do grupo) foram ano (2019 ou 2020) e processamento (Sim ou Não). Investigaram-se as contribuições de cada um dos fatores individualmente para a resposta em termos de a_w e mc . O modelo completo bidirecional permitiu a interação dos dois fatores.

5.5 Resultados e Discussão

Em geral, o objetivo da secagem é reduzir a a_w das castanhas e controlar efetivamente o crescimento de fungos e AFL. Os resultados da análise são apresentados na Tabela 1 e mostram níveis não detectados (N.d) de AFL em amostras secas e baixos níveis de AFL em amostras não secas de ambos os anos de colheita. Observou-se que as amostras atenderam ao limite aceitável para castanha do Brasil sem casca <10 ug/kg para AFL total de acordo com a legislação europeia (UE, 2011).

Colheitas	Amostras	AFL Total \pm SD (Faixa) ¹	Aw ²	mc ³
2019	Não secas	0.59 \pm 1.17 (N.d ⁴ -5.50)	0.88-0.99	6.91-32.56
	Secas	N.d	0.36-0.53	2.48-3.36
2020	Não secas	0.77 \pm 1.14 (N.d-5.03)	0.98-0.99	17.92-29.14
	Secas	N.d	0.23-0.29	0.25-0.42

¹ AFL Total \pm Desvio Padrão; ² Atividade da Água; ³% de teor de umidade; ⁴ Não detectado no limite de detecção.

Tabela 1. Variáveis do processo de secagem da castanha do Brasil: aflatoxina, atividade de água e teor de umidade.

A Tabela 1 também mostra os níveis de a_w em amostras não secas > 0,7, que é o nível máximo recomendado pela União Europeia (CAC, 2010). As amostras secas forneceram níveis de a_w baixos o suficiente para manter o mc em menos de 5% (nível de mc adotado pela legislação como medida de controle). De acordo com nossos achados, descritos na Tabela 2, houveram diferenças entre as colheitas e as amostras processadas e não processadas para a_w .

	Soma de sqrs	df	Quadrado médio	F	p (igual)
Colheita:	0.00532324	1	0.005323	6.364	0.01451
Processo:	3.10601	1	3.10601	3713	6.96E-53
Interação:	0.107642	1	0.107642	128.7	3.89E-16
Dentro de:	0.0468395	56	0.000836		
Total:	3.26581	59			

Tabela 2. ANOVA de duas vias para atividade de água (a_w).

A interação apresentou resultados significativos e nos levou a examinar os dois efeitos principais separadamente (Figuras 2a e 2b). Em 2020, houve uma grande redução nos níveis de a_w nos materiais processados, em comparação com as amostras de 2019.

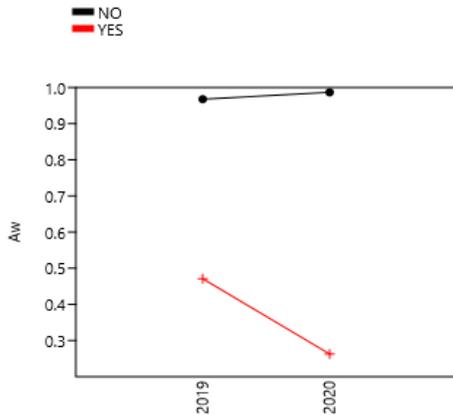


Fig 2a. Interação por colheita.

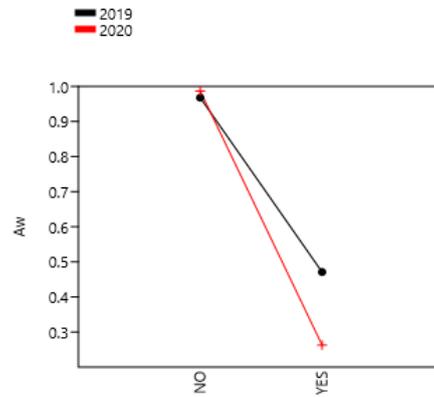


Fig 2b. Interação de amostras de castanha do Brasil (secas e não secas).

Figura 2: Interação de amostras de castanha do Brasil para A_w .

Em relação ao mc , não foram observadas diferenças entre safras ou interação entre os fatores (Tabela 3).

	Soma de sqrs	df	Quadrado médio	F	p (igual)
Colheita:	0.00445223	1	0.004452	1.398	0.242
Processo:	0.296024	1	0.296024	92.98	1.68E-13
Interação:	0.000663202	1	0.000663	0.2083	0.6499
Dentro de:	0.178289	56	0.003184		
Total:	0.479428	59			

Tabela 3. ANOVA de duas vias para teor de umidade (mc).

As amostras processadas de 2019 e 2020 mostraram uma redução significativa em mc em comparação com as amostras não processadas (Figuras 3a e 3b).

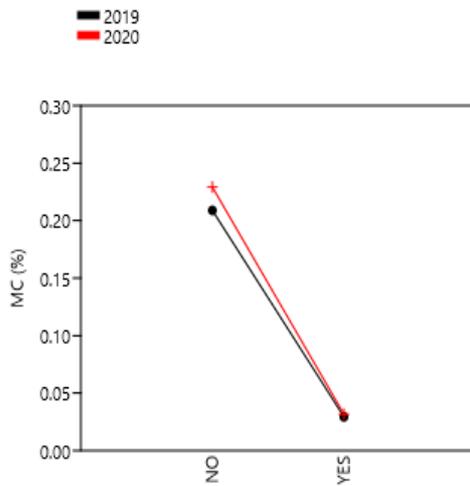


Figura 3a. Mc em diferentes amostras (secas e não secas).

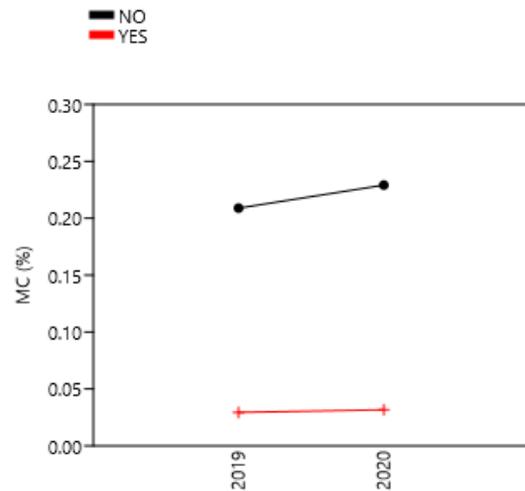


Figura 3b. Mc em diferentes safras.

Figura 3. Interação de conteúdo de umidade.

Outros estudos avaliaram o teor de a_w na época da colheita na floresta, embora as condições de secagem sejam artesanais e sem controle de temperatura. Em dados relatados por Leite et al. (2014), em que amostras de frutos de castanha do Brasil foram testadas no momento em que os frutos estavam no chão da floresta, os níveis de AFL foram baixos durante todo o período de estudo, o que sugere que as condições adversas da floresta não foram o principal fator de estimulação a produção de AFL. Na fase de armazenamento da fábrica, os silos e os fornos de secagem possuem sistemas de medição de temperatura e umidade. A aeração foi um sistema adotado nos silos para armazenamento de castanhas no estudo de Costa et al. (2017) e as amostras foram comparadas ao método tradicional. Costa e col. (2017) descobriram que este sistema reduziu o teor de umidade das nozes em 78,2% após 150 dias, no entanto, essa redução não foi rápida o suficiente para evitar a contaminação completamente e potencialmente produziu fungos AFL filamentosos. A a_w das nozes variou de 0,99-0,52, mostrando uma tendência de redução ao longo do tempo de armazenamento. De acordo com Botelho et al. (2019), para reduzir o risco de desenvolvimento de fungos, a castanha-do-Brasil deve ser armazenada em temperaturas $<55^\circ\text{C}$ e a mc deve ser $<8,2\%$. Em nosso estudo, na planta onde foram coletadas as amostras desidratadas, a temperatura média de secagem na estufa ao final do processo é de 70°C , mas o armazenamento do produto acabado fica entre $25\text{-}30^\circ\text{C}$. Portanto, é essencial a utilização do estudo das isotermas de sorção da castanha-do-Brasil testado por Chisté et al. (2007), no qual foi observado que para garantir a estabilidade microbiológica (a_w

<0,6), o *mc* da castanha não deve ser superior a 1,62 g%. Esse limite no teor de umidade do produto acabado é uma variável que também influencia os aspectos sensoriais do produto, como crocância, para que cada empresa encontre sua própria faixa aceitável de *mc*. Considerando que a recomendação para cada sistema de desidratação na planta de beneficiamento é utilizar um sistema de sorção seguro com $a_w < 0,7$, recomendamos que o sistema de várias etapas de secagem com secadores rotativos ou de bandeja seja monitorado como pontos de controle para segurança do produto. Neste contexto, indicamos a necessidade do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle (HACCP) analisar todas as etapas possíveis nas quais as medidas de controle são aplicadas, não apenas a secagem. Ariseto-Bragotto (2017) cita o sistema HAACP como a mais importante ferramenta de gestão da qualidade utilizada na indústria de alimentos no Brasil devido à prevenção de riscos à saúde humana e prevenção da adulteração de alimentos por meio de medidas de controle de risco.

Observou-se também que não houve amostra positiva para AFL em nível de $a_w < 0,9$, conforme mostrado na Figura 4. Isso pode ser explicado pelas Boas Práticas de Gestão (BPF) sendo aplicadas à matéria-prima pelos fornecedores, além dos cuidados com o armazenamento e transporte. As BPF são definidas pela legislação brasileira como “práticas básicas para os integrantes da cadeia produtiva da castanha-do-Brasil, visando atender aos princípios das Boas Práticas Agrícolas e Procedimentos Padronizados de Higiene Operacional (BRASIL, 2011). Como exemplos deste tipo de manejo, seleção das nozes e secagem antes do armazenamento; a secagem artificial (solar ou em fornos) deve começar logo após a colheita e progredir tão rapidamente quanto possível, o armazenamento em ambientes controlados para UR são dignos de nota. Duchelle et al. (2013) citam as “melhores práticas de gestão” como: (1) práticas de pré-colheita; (2) práticas silviculturais; e (3) práticas de colheita e pós-colheita, como secagem de nozes. Essas ações já foram citadas como possíveis ferramentas para a prevenção de AFLs em resultados não detectados e foram apresentadas por outros autores.

Baquião et al. (2013) analisaram amostras frescas de castanha-do-Brasil de diferentes locais e observaram amostras não detectadas de AFL. Os resultados dos autores estão de acordo com os achados de outros pesquisadores que analisaram amostras da região amazônica. Em seu estudo, a a_w das amostras armazenadas não atingiu 0,80, valor que favorece o crescimento do fungo, mas impede a produção de AFL. Na indústria, a extração das cascas e a triagem das nozes visivelmente deterioradas por fungos também podem ter contribuído para a ausência de AFL nas nozes armazenadas. Nas castanhas processadas (secas) que foram exportadas, podemos citar os resultados de Cunha et al. (2018) que analisaram castanha do Brasil no Porto (Portugal) e 2 amostras estavam livres de contaminação por AFL quando

analisadas por LCMS-MS. Essawet et al. (2017) analisaram amostras de castanhas na Líbia, e 40% das amostras eram amostras positivas para AFL. Esses dois estudos sugerem que, apesar da melhoria na fábrica de origem, a desidratação é eficiente em tornar o produto acabado seguro até chegar aos consumidores de outros continentes, embora as condições de transporte e armazenamento possam oferecer condições para nova contaminação fúngica com a produção da AFL. Tai et al. (2020) sugerem que a integração de vários métodos pós-colheita com funções sinérgicas pode ser mais eficiente para o controle do crescimento de *A. flavus* e produção de AFL, embora fatores ambientais individuais por si só tenham um impacto.

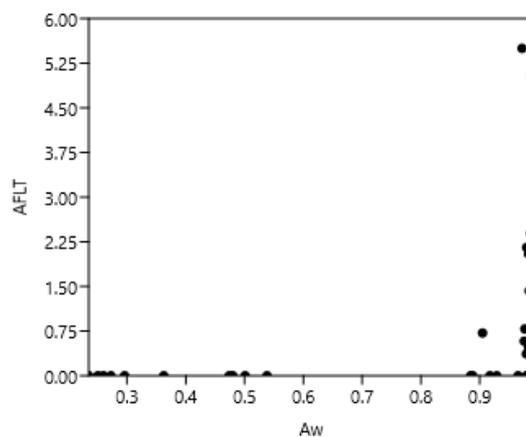


Figura 4. A_w em amostras positivas de AFL.

Após as etapas de desidratação, outras estratégias podem ser aplicadas para manter os produtos em níveis seguros, como CO_2 (MAHBOBINEJHAD et al., 2019) e aplicação de ozônio (OLIVEIRA et al., 2020).

Pelos dados obtidos, podemos observar que a melhoria do processo para as duas safras garantiu que as variáveis a_w e mc ajudaram a manter a segurança da castanha contra AFL. Isso tem um impacto direto, pois contribui para o bem-estar socioeconômico da cooperativa e de seus colaboradores, uma vez que a atividade garante o sustento econômico para muitas famílias que dela dependem. Dessa forma, o valor de mercado do produto fornecido pelas cooperativas é ligeiramente superior ao disponibilizado nas demais modalidades de comercialização, que se baseiam na intermediação (SOUZA-SILVA, 2019). Isso porque o contexto de benefício social e proteção ambiental da floresta agrega valor ao produto.

5.6 Conclusão

O objetivo do estudo foi cumprido uma vez que as duas safras mostraram o impacto da secagem em relação a a_w e mc na prevenção de AFL em castanha-do-Brasil. Amostras processadas das safras 2019 e 2020 apresentaram redução significativa no teor de mc em relação às amostras não processadas e isso pode ser explicado por alguma modernização na secagem e melhores condições de armazenamento da matéria-prima. Concluímos que o binômio tempo/temperatura tem impacto direto na segurança do produto e deve ser aplicado desde o momento da coleta da matéria-prima até o início do processo industrial para manutenção econômica da cadeia produtiva e deve ser adotado em todas as comunidades tradicionais.

5.7 Referências Bibliográficas

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 20th edition. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. 2016.

ARISSETO-BRAGOTTO, A. P., FELTES, M. M. C., & BLOCK, J. M. **Food quality and safety progress in the Brazilian food and beverage industry: chemical hazards**. *Food Quality and Safety*, 1(2), 117-129. 2017.

BAQUIÃO, A. C., OLIVEIRA, M. M. M., REIS, T. A., ZORZETE, P., ATAYDE, D. D., CORRÊA, B. **Monitoring and Determination of Fungi and Mycotoxins in Stored Brazil Nuts**. *Journal of Food Protection*, 76(8), 1414–1420. 2013.

BERTWELL, T. D., KAINER, K. A., CROPPER, W. P., STAUDHAMMER, C. L., WADT, L. H. O. **Are Brazil nut populations threatened by fruit harvest?** *Biotropica on line*, 50(1), 50–59. 2017.

BOTELHO, F. M., BOSCHIROLI NETO, N. J., BOTELHO, S. DE C. C., OLIVEIRA, G. H. H. DE, & HAUTH, M. R. **Sorption isotherms of Brazil nuts**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 23(10), 776-781. 2019.

BRAZIL. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Instruction Normative nº 11, 22 march (2010). **Criteria and Procedures for the control hygiene and health the Brazil nut and its by products**. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF*, 23 mar. 2010.

CAC - Codex Alimentarius Commission. **Proposed draft maximum level for total aflatoxins in brazil nuts**. ALINORM 10/33/41 Appendix V, 47. Joint FAO/WHO Food Standards Program, FAO, Rome. 2010.

CHISTÉ, R. C., LOPES, A. S., & DA SILVA PENA, R. Moisture adsorption isotherm from Brazil-nut (*Bertholletia excelsa*). *Revista Brasileira de Tecnologia*, 6(01), 671-679. 2012.

COSTA, D. A., ÁLVARES, V. S., KUSDRAL, J. F., NOGUEIRA, R. M., MACIEL, V. T., MIQUELONIL, D. P. **Quality of in-shell Brazil nuts after drying using a pilot natural convection oven in the state of Acre, Brazil**. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20, e2015104. 2017.

CUNHA, S. C., SA, S. V., & FERNANDES, J. O. **Multiple mycotoxin analysis in nut products: Occurrence and risk characterization**. *Food and chemical toxicology*, 114, 260-269. 2018.

MELLO, F. R., SCUSSEL, V. M. **Development of Physical and Optical Methods for In-shell Brazil Nuts Sorting and Aflatoxin Reduction.** *Journal of Agricultural Science*, 1(2), 3-14. 2009.

DUCHELLE, A. E., KAINER, K. A., & WADT, L. H. **Is certification associated with better forest management and socioeconomic benefits? A comparative analysis of three certification schemes applied to Brazil nuts in Western Amazonia.** *Society & Natural Resources*, 27(2), 121-139. 2013.

EC - **European Comission.** Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006R1881-20200401&from=EN>. 2010.

ESSAWET, N., ABUSHAHMA, H., INBAIA, S., NAJII, A., & AMRA, H. A. **Natural Incidence of Aflatoxins and Ochratoxin A Nuts Collected from Local Market in Tripoli.** *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, p.1479-1486. 2017.

FUNATSU, B. M., DUBREUIL, V., RACAPÉ, A., DEBORTOLI, N. S., NASUTI, S., & LE TOURNEAU, F. M. **Perceptions of climate and climate change by Amazonian communities.** *Global Environmental Change*, 57, 101923. 2019.

HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T. & RYAN, P.D. **PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis.** *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. 2001.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Agents classified by the IARC Monographs.** Volumes 1–116. 2016.

IDAM - Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas. **Relatório de Atividades 2017.** Manaus, p.73. 2017.

ISMAIL, A., GONÇALVES, B. L., NEEff, D. V., PONZILACQUA, B., COPPA, C. F. S. C., HINTZSCHEC, H., SAJIDE, M., CRUZF, A. G., CORASSIN, C. H., OLIVEIRA, C. A. F. **Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination.** *Food Res Int*, 113, 74-85. 2018.

LEITE, F. M. N., DE SOUZA, L., DE SOUZA, J. M. L., DA C CARTAXO, C. B., DE S ÁLVARES, V., & DA CUNHA, C. R. **Incidence of Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus and aflatoxins in Brazil nuts in the Amazon forest environment.** *World Mycotoxin Journal*, 7(2), 199-205. 2014.

LIMA, A. M., GONÇALVES, E. C., ANDRADE, S. S., BARBOSA, M. S., BARROSO, K. F., DE SOUSA, M. B., BORGES, L., VIEIRA, J. L. F., & TEIXEIRA, F. M. **Critical points of Brazil nuts: a beginning for food safety, quality control and Amazon sustainability.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 735-740. 2012.

MAHBOBINEJHAD, Z., AMINIAN, H., EBRAHIMI, L., VAHDATI, K. **Reduction of aflatoxin production by exposing *Aspergillus flavus* to CO₂.** *Journal of Crop Protection*, 8(4), 441-448. 2019.

MEDINA, A., AKBAR, A., BAAZEEM, A., RODRIGUEZ, A., & MAGAN, N. **Climate change, food security and mycotoxins: do we know enough?** *Fungal Biology Reviews*, 31(3), 143-154. 2017.

OLIVEIRA, G. S., DA SILVA, M. T. S., DREYER, T. C., FREIRE, G. M., ORSO, G. A., HEIMANN, J. D. P. **Brazilian exports of castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*, H.B.K) under the optics of market concentration.** *BIOFIX Scientific Journal*, 5(1), 07-12. 2020.

OLIVEIRA, J., ALENCAR, E., BLUM, L., FERREIRA, W., BOTELHO, S. C., RACANICCI, A., SANTOS, E., MENDONÇA, A., MOSCON, E., BIZERRA, L., SILVA, C. **Ozonation of Brazil nuts: Decomposition kinetics, control of *Aspergillus flavus* and the effect on color and on raw oil quality.** *LWT - Food Science and Technology*. 123. 109106. 2020.

PACHECO, A. M., MARTINS, M. **Brazil nut sorting for aflatoxin prevention: a comparison between automatic and manual shelling methods.** *Food and Science Technology*, 33, p. 369-375. 2013.

REIS, T. A., OLIVEIRA, T. D., BAQUIÃO, A. C., GONÇALVES, S. S., ZORZETE, P., CORREA, B. **Mycobiota and mycotoxins in Brazil nut samples from different states of the Brazilian Amazon region.** *International Journal Food Microbiology*. 159, 61-8. 2012.

RIBEIRO, M. S. S., FREITAS-SILVA, O., CASTRO, I. M., TEIXEIRA, A., MARQUES-DA-SILVA, S. H., MORAES, A. C. S., ABREU, L. F., SOUSA, C. L. **Efficacy of sodium hypochlorite and peracetic acid against *Aspergillus nomius* in Brazil nuts.** *Journal Pre-proof*, S0740-0020(20)30038-1. 2020.

RUSU, M. E., MOCAN, A., FERREIRA, I. C., & POPA, D. S. **Health Benefits of Nut Consumption in Middle-Aged and Elderly Population.** *Antioxidants*, 8(8), p. 302. 2019.

SILVA, A. C., SARTURI, H. J., DALL'OGGIO, E. L., SOARES, M. A., SOUSA, P. T., VASCONCELOS, L. G., KUHNEN, C. A. **Microwave drying and disinfestation of Brazil nut seeds.** *Food Control*, 70, 119-129. 2016.

SILVA, F. A. & MARSAIOLI-JUNIOR, A. **Estudo comparativo da conservação de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) seca por microondas e convencionalmente.** Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba, 22(2), 387-404. 2004.

SOUSA-SILVA, L. D. J., PINHEIRO, J. O. C., DOS SANTOS, E. M., DA COSTA, J. I., & MENEGHETTI, G. A. **O cooperativismo como instrumento para a autonomia de comunidades rurais da Amazônia: a experiência dos agricultores extrativistas do município de Lábrea, AM.** Boletín de la Asociación Internacional de Derecho Cooperativo= International Association of Cooperative Law Journal, (55), 199-226. 2019.

TAI, B., CHANG, J., LIU, Y., & XING, F. **Recent progress of the effect of environmental factors on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxins production on foods.** Food Quality and Safety, 4(1), 21-28. 2020.

TANIWAKI, M. H.; PITT, J. I.; COPETTI, M. V.; TEIXEIRA, A. A.; IAMANAKA, B. T. **Understanding Mycotoxin Contamination Across the Food Chain in Brazil: Challenges and Opportunities.** Toxins, 11, p. 411. 2019.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo obteve resultados satisfatórios uma vez que foi possível atestar que o binômio tempo/temperatura utilizado durante o processo de secagem das castanhas na usina de beneficiamento foi efetivo para as duas safras ao garantir, para estas amostras, que as variáveis a_w e mc colaboraram na manutenção da segurança do produto contra as AFLs. Faz-se necessário lembrar que mantendo os teores de água dentro dos níveis estipulados pela legislação, previne-se o desenvolvimento de micotoxinas que fazem com que diversos lotes de castanha sejam rejeitados no momento da exportação, além do que garante também o sustento de milhares de famílias que vivem do extrativismo.

Recomenda-se para estudos futuros que sejam analisadas também, a relação entre a_w e mc com outras micotoxinas além das AFLs, como por exemplo, OTA e DON que são toxinas já encontradas em outras nozes e ainda pouco estudadas na castanha-do-Brasil. Outro ponto importante que pode ser levado em consideração para estudos posteriores é a utilização de diferentes metodologias para a eliminação de micotoxinas, como a utilização de radiação ultravioleta. O emprego dessas metodologias tem sido efetivo tanto quanto a secagem no quesito redução de fungos nos alimentos. Melhoramentos podem ser aplicadas também no próprio método de secagem para manter os teores de água abaixo do limite para crescimentos de fungos. Aperfeiçoando cada vez mais o processo de secagem é possível se obter um produto seguro e lucrativo. Por fim, as usinas de beneficiamento poderiam realizar parcerias com os castanheiros para que façam uso de boas práticas de manipulação durante toda a fase exploratória, a fim de garantir as melhores condições possíveis para a matéria-prima não só após à chegada à usina, mas também desde o início da coleta.