



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MARIA DO SOCORRO SOUZA RIBEIRO

**Influência dos fatores de estocagem e processamento sob a microbiota superficial de  
castanhas-do-brasil**

BELÉM  
2017

MARIA DO SOCORRO SOUZA RIBEIRO

**Influência dos fatores de estocagem e processamento sob a microbiota superficial de  
castanhas-do-brasil**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade  
Federal do Pará para obtenção do grau de Bacharel em  
Engenharia de Alimentos.

Orientadoras: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Consuelo Lúcia Sousa de Lima  
Dra. Laura Figueiredo Abreu

BELÉM  
2017

MARIA DO SOCORRO SOUZA RIBEIRO

**Influência dos fatores de estocagem e processamento sob a microbiota superficial de castanhas-do-brasil**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pará para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadoras: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Consuelo Lúcia Sousa de Lima  
Dra. Laura Figueiredo Abreu

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Consuelo Lúcia Sousa de Lima – Dra. em Ciência Animal, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará (UFPA) – Orientadora.

---

Técno logo de Alimentos Victor Hugo Alves do Nascimento – Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pará (UFPA) – Membro.

---

Engenheira de Alimentos Rafaela Santos de Oliveira da Silva – Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pará (UFPA) – Membro.

Belém, \_\_\_\_\_ de fevereiro de 2017.

Conceito: \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todas as bênçãos e proteção, por todas as oportunidades que a mim foram dadas e pelas pessoas maravilhosas que fazem parte da minha vida, minha família e meus amigos.

Agradeço ao meu pai Afonso da Silva Ribeiro e minha mãe Maria das Graças da Silva Souza pelo amor e carinho dedicado, por nunca medirem esforços para que eu e meu irmão tivéssemos as oportunidades que eles não tiveram. Sou grata a Deus pelas suas vidas e pela nossa família, saibam que sempre vou me dedicar ao máximo para que possam ter orgulho de mim. Sem vocês eu nada seria.

Agradeço ao meu irmão Afonso Lucas Souza Ribeiro pelo carinho e companhia de toda a vida. Saiba que você é meu orgulho e que tenho certeza que todos os seus sonhos serão realizados por conta do seu esforço e dedicação.

Agradeço a minha querida professora Consuelo, que em todos esses anos tem me ajudado e acreditado em mim. A senhora é bem mais que uma orientadora, tem sido uma mãe, amiga e companheira de todas os momentos. Agradeço a Deus todos os dias pela sua vida e que ele possa lhe conservar esta pessoa alegre e cheia de luz!

Agradeço a minha co-orientadora Doutora Laura Figueiredo Abreu pela oportunidade e confiança.

Agradeço a todos os professores da FEA/UFPA pelos conhecimentos repassados.

Agradeço a todos os meus amigos do Laboratório de Microbiologia Sussu, Rosi, Osienne, Bruno, Luiza, Carol, Rafaela Colaço e Victor, todos vocês são pessoas maravilhosas muito obrigada por toda ajuda e carinho.

A Rafaela Santos e a Lidinei Carvalho amigas tão especiais que a UFPA e o Laboratório de Microbiologia me deram, meninas não tenho como agradecer a amizade de vocês!

Agradeço a todos os meus colegas novos Engenheiros de Alimentos da Turma de 2012, em especial as minhas amigas Ananda LeHalle, Anna Paula Barbosa e Giselle Menezes, muito obrigada por todos os momentos especiais e por alegrarem os meus dias nestes 5 anos. Tudo seria mais difícil sem a amizade de vocês! Minha amiga Nayara Silva obrigada por sempre estar presente na minha vida e me apoiar, pode sempre contar comigo Curica.

## Influência dos fatores de estocagem e processamento sob a microbiota superficial de castanhas-do-brasil

### Resumo

A castanha-do-brasil é uma oleaginosa amazônica com elevada riqueza nutricional e funcionalidades, entretanto a produção extrativista, pode favorecer a contaminação por micro-organismos ao longo da cadeia produtiva. Este trabalho teve como objetivo a quantificação da contaminação da superfície de castanhas-do-brasil, ao longo de sua cadeia produtiva, com ênfase na influência que as diferentes formas de estocagem causam sob os fungos *Aspergillus flavus* e *A.parasiticus*. As amostras foram submetidas a análises microbiológicas de contagem de bactérias mesófilas, bolores e leveduras e *Aspergillus flavus* e *parasiticus*. As amostras coletadas no assentamento apresentaram contagens de bolores e leveduras e de bactérias mesófilas acima de  $10^5$  e  $10^4$  UFC/ g, respectivamente; para amostras do processamento as contagens de bolores e leveduras variaram de  $>10^2$  a  $10^5$  UFC/g e de bactérias mesófilas de  $>10^1$  a  $10^4$  UFC/ g. Para contagem de *A. flavus* e *A. parasiticus*, houve variação de  $<1 \times 10^1$  a  $10^3$  UFC/g tanto nas amostras coletadas no assentamento como na indústria. De acordo com os resultados, pode-se concluir que o tempo é o fator que mais influência no crescimento microbiológico e que a ação do calor contribui para a redução da microbiota, contudo as sucessivas etapas de armazenamento contribuem para recontaminações das castanhas.

Termos para indexação: castanha-do-brasil; armazenamento; *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*; processamento.

## **Influence of storage and processing factors under the surface microbiota of brazil nuts**

### **Abstract**

Brazil nut is an Amazonian oleaginous with great nutritional richness and functionalities, can produce a contamination by microorganisms along the productive chain. The objective of this work was to quantify the contamination of Brazil nut surface along its production chain, with an influence that as different forms of storage causes under the fungi *Aspergillus flavus* and *A.parasiticus*. The samples were submitted to microbiological analysis of mesophilic bacteria, molds and yeasts and *Aspergillus flavus* and *parasiticus*. As collected non-settlement samples showed counts of molds and yeasts and of mesophilic bacteria above  $10^5$  and  $10^4$  CFU/g, respectively; For processing samples such as mold and yeast counts varied from  $> 10^2$  to  $10^5$  UFC/g and from mesophilic bacteria of  $> 10^1$  to  $10^4$  UFC/g. For counting of *A. flavus* and *A. parasiticus*, there was variation from  $<1 \times 10^1$  to  $10^3$  UFC / g in both the samples collected in the settlement and in the industry. According to the results, it can be concluded that time is the factor that most influences the microbiological growth and that the heat action contributes to the reduction of the microbiota, successfully as successive stages of accounting for recontaminations of the nuts.

Index terms: Brazil nuts; Storage; *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*; Processing.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>9</b>
2.1	LOCAL DE COLETA.....	9
2.2	COLETA DAS AMOSTRAS.....	9
2.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	12
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>18</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>18</b>
	<b>ANEXO 1.....</b>	<b>21</b>

## **Influência dos fatores de estocagem e processamento sob a microbiota superficial de castanhas-do-brasil**

Artigo em fase de revisão para ser submetido a publicação no formato de Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Embrapa (Configuração conforme normas da revista – **ANEXO 1**)

### **1. Introdução**

A castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K) possui um papel fundamental na organização socioeconômica das grandes áreas extrativistas nos estados da Amazônia Legal (Acre, Para, Amapá, Amazonas, Rondônia e Roraima), apresentando elevada importância no sustento das famílias de baixa renda dos povos da floresta fazendo parte da sua base alimentar.

As amêndoas de castanhas são ricas em nutrientes apresentando em sua composição proteínas, lipídios, vitaminas, selênio e ainda compostos fenólicos e antioxidantes, que podem de forma efetiva controlar o estresse oxidativo no organismo (JOHN & SHAHIDI, 2010; MASSI et al., 2014). Entretanto, o modelo tradicional de extrativismo favorece a existência de diversos pontos de contaminação por micro-organismos em toda a cadeia produtiva (PAS, 2004; MASSI et al., 2014).

Os fungos são um grupo que merece destaque, visto que tem seu crescimento favorecido pelas condições de elevada temperatura e umidade da floresta amazônica. Diversos estudos discorrem sobre a ocorrência de fungos produtores de aflatoxinas em castanhas-do-brasil, principalmente fungos do gênero *Aspergillus* (ARRUS et al 2005; BAQUIÃO et al., 2012; TANIWAKI et al., 2016). As aflatoxinas são caracterizadas como um grupo de metabólitos secundários extremamente tóxicos e cancerígenos (BAQUIÃO et al., 2012; TANIWAKI et al., 2016).

O processamento das castanhas-do-brasil é caracterizado pelo baixo nível tecnológico, apesar de adotadas algumas medidas para a redução dos níveis de contaminação, como por exemplo, a retirada das castanhas deterioradas na etapa do descascamento e seleção visual, não é possível garantir a ausência de aflatoxinas após o beneficiamento, visto que as condições de estocagem e armazenamento, em geral, são deficitárias, principalmente para a castanha ainda úmida (MARKLINDER et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2006; BAQUIÃO et al., 2012).

A monitorização dos alimentos importados de países de fora da União Europeia coloca a castanha-do-brasil entre os 10 produtos com maior índice de contaminação por aflatoxinas. Esse quadro tem prejudicado as exportações para a União Europeia e, por consequência, a saúde do consumidor brasileiro, tendo em vista a devolução de lotes contaminados que podem ser reutilizados no mercado interno (FAO, 2006; FRANK; BAQUIÃO et al., 2016). Bem como das populações extrativistas que tem a castanha como base alimentar.

Uma vez que a exigência de um produto seguro é imperativa, os cuidados para tal devem começar no campo, a fim de minimizar a contaminação fúngica e a produção de micotoxinas (Freitas-Silva et al., 2011). Como a castanha-do-brasil é a única noz que é obtida diretamente da floresta, as boas práticas agrícolas (BPA), não se aplicam, mas as boas práticas de higiene (BPH), são uma exigência, principalmente para castanhas que serão consumidas sem nenhum processo validado de conservação (ICMSF, 2015).

Neste contexto, alternativas de descontaminação da superfície de castanhas, passíveis de serem utilizadas tanto na floresta quanto na indústria, de tal forma que não comprometa as características nutricionais e sensoriais do produto final, tem se mostrado necessárias. Estudos de avaliação de eficiência de agentes sanitizantes, tanto físicos quanto químicos, iniciam com um diagnóstico prévio das condições reais de contaminação de uma matéria-prima ou produto, para delinear o raio de ação de novos métodos de descontaminação.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo principal a quantificação da contaminação natural da superfície de castanhas-do-brasil, ao longo de uma cadeia produtiva característica da região amazônica, com ênfase na influência que as diferentes formas de estocagem causam sob a população dos fungos *Aspergillus flavus* e *A.parasiticus*.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Local de coleta**

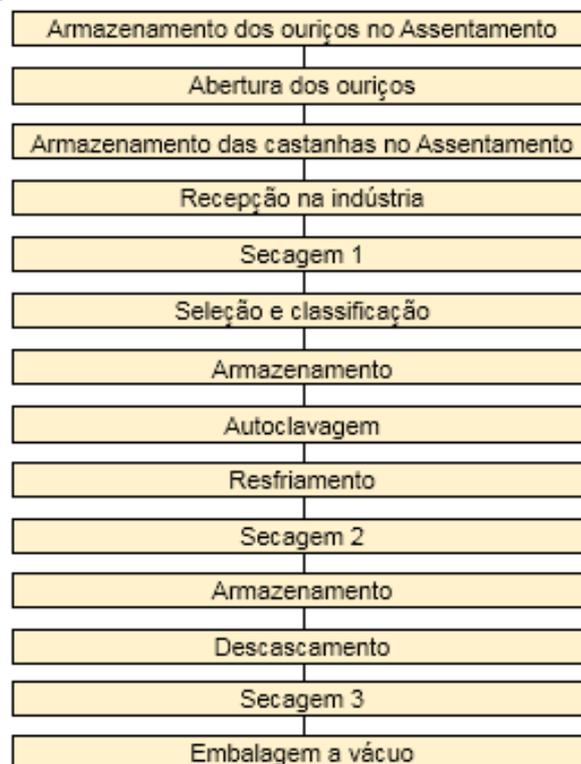
As amostras de castanha-do-brasil utilizadas neste estudo foram provenientes do assentamento Cruzeiro e de uma indústria de processamento de castanhas localizados no município de Óbidos na região do Baixo Amazonas, Oeste do estado do Pará. O município de Óbidos tem como particularidade a distância, entre as

fábricas de beneficiamento de castanha e os castanhais e assentamentos, a partir de 40 Km podendo chegar a mais de 100 km. Grande parte do transporte é feito por intermediários em caminhões através dos ramais. Em época de chuva o transporte pode demorar dias. As fábricas de Óbidos podem receber ainda castanhas de outros municípios dos demais estados produtores da Amazônia Legal, as quais são transportadas por via fluvial.

## 2.2 Coleta das amostras

Foram coletadas em junho de 2016, 15 amostras de castanha-do-brasil ao longo da cadeia produtiva, desde o campo até a indústria (Figura 1). Os locais de coleta foram definidos a partir da identificação de fatores que influenciam diretamente na qualidade microbiológica do produto tais como tempo, forma de armazenamento e efeito das etapas de processamento.

**Figura 1.** Fluxograma da produção de castanhas do campo até a indústria.



Os locais de coletas definidos foram:

### 1- Assentamento Cruzeiroão

Os ouriços eram armazenados em galpão de madeira coberto e aberto ou em locais sem cobertura. Foram coletados 12 ouriços armazenados em tempos e formas distintos, sendo agrupados em 3 amostras:

Amostra 1: castanhas de três ouriços coletados imediatamente após a queda, que foram previamente secos e depois colocados em sacas, e mantidos armazenados por cinco meses.

Amostra 2: castanhas de três ouriços coletados dois meses após a queda, colocados úmidos em sacas e mantidos armazenados por quatro meses em local coberto.

Amostra 3: castanhas de seis ouriços coletados dois meses após a queda e armazenados por dois meses mantidos úmidos sem proteção no ambiente.

Após a quebra dos ouriços, as castanhas permaneceram armazenadas nos galpões de madeira. Foram coletadas três amostras de castanhas, com cerca de 300g cada, armazenadas em tempos e formas diferentes:

Amostra 4: castanhas armazenadas por cinco meses após a coleta no campo em paiol coberto (compartimento de madeira).

Amostra 5: castanhas armazenadas úmidas por um mês após coleta no campo.

Amostra 6: castanhas armazenadas úmidas por dois meses após coleta no campo, mantidas em sacas de polipropileno trançado em local aberto.

## **2- Recepção na indústria**

Todas as castanhas recebidas na indústria seguiram para a sala de recepção, onde podem permanecer por longos períodos. Foram coletadas três amostras nesta etapa:

Amostra 7: Três sacos com 200g de castanhas coletadas no momento da chegada na indústria, provenientes do município de Maués-AM. As castanhas foram transportadas em sacas de barco por cerca de três dias.

Amostra 8: Três sacos com 200g de castanhas armazenadas por um mês no pátio da fábrica submetidas a secagem gradual.

Amostra 9: Três sacos com 200g de castanhas coletadas antes da etapa de secagem, armazenadas por dois meses em trulhas (compartimentos para armazenamento de grãos).

### **3- Armazenamento das castanhas em depósitos de madeira.**

As castanhas secas (após Secagem 1) eram divididas de acordo com o tamanho (P, M e G) e armazenadas em depósitos de madeira denominados de tulhas podendo permanecer de 10 a 14 dias antes da autoclavagem. Nesta etapa foi coletada a seguinte amostra:

Amostra 10: Três sacos com 200g de castanhas.

### **4- Resfriamento**

As castanhas secas seguiram para autoclavagem e posteriormente ocorreu a etapa do resfriamento, com água. Nesta etapa foi coletada a seguinte amostra:

Amostra 11: Três sacos com 200g de castanhas úmidas e quentes.

### **5- Armazenamento em depósitos de madeira**

Após resfriamento as amostras eram secas (Secagem 2) e armazenadas por dois dias em depósitos de madeira aguardando o descascamento.

Amostra 12: Três sacos com 200g

### **6- Descascamento**

Na etapa do descascamento as amêndoas eram descascadas mecanicamente. Sendo coletada a amostra 13:

Amostra 13: Três sacos com 200g de castanhas descascadas.

### **7- Secagem**

Após a etapa de descascamento as castanhas eram submetidas a última etapa de secagem (Secagem 3).

Amostra 14: Três sacos com 200g de castanhas.

### **8- Embalagem a vácuo**

As castanhas foram embaladas através do sistema adotado na fábrica utilizando embalagem multicamada com alumínio, de alta barreira e sob vácuo.

Amostra 15: 1kg de castanhas prontas para consumo.

Todas as amostras foram coletadas em sacos estéreis, armazenadas de forma adequada em caixa isotérmica e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Pará.

### **2.3 Análises microbiológicas**

A remoção da contaminação superficial das castanhas, para posterior contagem, foi realizada através do método de solução de enxágue, utilizando-se 225 a 270 mL de peptona estéril para o equivalente a, aproximadamente, 25 ou 30g de castanhas inteiras (média de 6 castanhas), seguida de agitação constante e padronizada das amostras, para completa remoção de microrganismos presentes.

As amostras foram submetidas às análises de Contagem de bolores e leveduras em meio DRBC (Dicloran Rosa Bengala Clorafenicol) e Contagem de *Aspergillus Flavus* e *Aspergillus Parasiticus*, através de plaqueamento superfície em meio AFPA, incubado a temperatura de 30 °C em DBO no tempo de 42 a 48 horas contando-se as colônias que apresentaram reverso de cor alaranjada como *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.

Também foi realizada Contagem de bactérias aeróbias mesófilas em meio PCA (Agar Plate Count). As análises de contagem de bolores e leveduras e bactérias aeróbias mesófilas seguiram metodologias descritas no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (DOWNES; ITO, 2001). Para contagem de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* adotou-se metodologia proposta por Pitt et al. (1983).

### 3. Resultados e Discussão

As amostras coletadas tanto no assentamento como na indústria apresentaram elevados níveis de contaminação pelos micro-organismos analisados (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados das análises microbiológicas nas amostras de castanha-do-brasil coletadas no campo e durante o processamento.

Locais de coleta	Amostras	Armazenamento (d/m)	Bolores e Leveduras (UFC/g)	<i>A. flavus</i> e <i>A. parasiticus</i> (UFC/g)	Bactérias mesófilas (UFC/g)
Assentamento	1	5m	$3,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^3$	$7,0 \times 10^4$
	2	4m	$7,6 \times 10^5$	$4,1 \times 10^3$	$2,8 \times 10^6$
	3	2m	$2,6 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^1$	$6,3 \times 10^4$
	4	5m	$2,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^2$	$6,0 \times 10^5$
	5	1m	$6,2 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^5$
	6	2m	$3,8 \times 10^5$	$6,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^5$
Recepção indústria)	7	0	$3,7 \times 10^5$	$4,0 \times 10^3$	$7,0 \times 10^4$
	8	1m	$3,1 \times 10^5$	$2,5 \times 10^3$	$7,3 \times 10^4$
	9	2m	$9,5 \times 10^4$	$6,2 \times 10^3$	$5,3 \times 10^2$
Armazenamento	10	10 á 14 d	$7,0 \times 10^4$	$5,4 \times 10^3$	$3,5 \times 10^2$
Resfriamento	11	0	$2,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^1$	$7,6 \times 10^1$
Armazenamento	12	2 d	$7,3 \times 10^4$	$3,5 \times 10^2$	$3,7 \times 10^2$
Descascamento	13	0	$9,9 \times 10^5$	$2,5 \times 10^2$	$5,2 \times 10^4$
Secagem	14	0	$4,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^2$	$4,6 \times 10^1$
Embalagem	15	0	$1,8 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^1$	$9,3 \times 10^1$

<sup>1)</sup>Am 1; 3: Castanhas de ouriços armazenados sob diferentes formas.

Am 4; 6: Castanhas armazenados sob diferentes formas.

Am 7; 9: Castanhas armazenadas em diferentes tempos.

Am 10: Castanhas com casca armazenadas após secagem 1.

<sup>(2)</sup>d: dias ;

m: meses

Am 12: Castanhas armazenadas após secagem 2.

Am 13: Castanhas descascadas.

Am 14: Castanhas descascadas após secagem 3.

Am 15: embalagem a vácuo.

As amostras coletadas no assentamento apresentaram contagens de bolores e leveduras e de bactérias mesófilas acima de  $10^5$  e  $10^4$  UFC/g, respectivamente. Nas amostras oriundas do processamento, as contagens de bolores e leveduras variaram de  $>10^2$  a  $10^5$  UFC/g e de bactérias mesófilas de  $>10^1$  a  $10^4$  UFC/g. As condições climáticas da região amazônica com elevada umidade e estação chuvosa abundante, favorecem o crescimento de micro-organismos nas castanhas-do-brasil. Ainda nas árvores, os ouriços podem ser alvos dos ataques de aves, insetos, roedores e macacos, estes animais deixam inóculos de fezes, regurgitações e saliva

contribuindo para a contaminação e riqueza da microbiota (ALMEIDA et al., 2009; SEGOVIA et al., 2011; REIS et al., 2012).

A castanheira é uma árvore de grande porte, que pode atingir mais de 50 metros de altura. Esta característica dificulta a realização da colheita dos frutos (ouriços) nas árvores. Conseqüentemente, ocorre a queda de forma irregular e natural dos ouriços no solo onde podem permanecer por vários dias até que seja realizada a coleta. O contato dos ouriços com o solo é uma importante via de contaminação (PAS, 2004; PENNANCCHIO, 2006).

No presente estudo a contagem de *A. flavus* e *A. parasiticus*, que são espécies micotoxigênicas variou de  $<1 \times 10^1$  a  $10^3$  UFC/g tanto nas amostras coletadas no assentamento como na indústria. O solo agrícola pode servir de reservatório para diferentes fungos, inclusive espécies produtoras de aflatoxinas (BAYMAN e COTTY, 1991 e COTTY, 1997) que podem colonizar a planta e infectar a semente durante a permanência no solo (JACKSON e BELL, 1969).

Em estudo realizado por Baquião (2013) o solo foi a rota de infecção mais importante para castanha-do-brasil, sendo o *A. flavus* a segunda espécie mais isolado neste substrato. No mesmo estudo, o longo tempo de contato do ouriço com o solo e as condições climáticas da região amazônica contribuíram de forma significativa para o desenvolvimento fúngico. No presente trabalho, não foi possível a realização de coleta de amostras em contato com o solo, no entanto considerou-se o tempo de permanência dos ouriços na floresta um parâmetro importante que pode justificar a contaminação inicial das amostras.

Após a coleta na floresta, os ouriços seguem para o assentamento onde são amontoados e armazenados por diferentes períodos (Figura 2). Segundo Taniwaki (2016) independente da contaminação inicial das amêndoas, a armazenagem é considerada crítica, e de acordo com a forma e duração, haverá maior ou menor possibilidade de desenvolvimento de fungos produtores de aflatoxinas como *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.



**Figura 2.** Armazenamento de castanhas-do-brasil no assentamento Cruzeiroão.  
**A-**Ouriços armazenados em sacos de polipropileno trançado em local coberto e aberto;  
**B-** Ouriços armazenados em local aberto e sem cobertura.  
**C-** Castanhas amontoadas em local aberto com cobertura  
**D-** Castanhas armazenadas em caixas de madeira cobertas  
**E-** Ouriços armazenados úmidos em sacos de polipropileno sem proteção.

A amostra 1 (ouriço) passou por processo de secagem antes do armazenamento, o que pode justificar a redução do crescimento microbiano em relação a amostra 2 (ouriço), armazenada úmida e seca naturalmente durante o período de permanência no assentamento. A amostra 3 (ouriço) armazenada úmida e desprotegida no ambiente foi a única entre as amostras de ouriços com crescimento de *Aspergillus flavus* e *parasiticus* inferior a  $1,0 \times 10^1$  UFC/g, este resultado está associado ao menor tempo de armazenamento. Da mesma forma, o menor tempo de armazenamento das amêndoas com cascas coletadas no assentamento (amostra 5) mostrou-se fator determinante para o nível de contaminação, ou também pode-se considerar o mecanismo de antagonismo entre os micro-organismos visto que houveram elevadas contagens de outros fungos e bactérias na amostra (LEITE, 2008).

É válido ressaltar, que a ausência do *Aspergillus flavus* não significa que a amostra não possa estar contaminada com aflatoxinas (MASSI, 2014; BAQUIÃO, 2013). Embora neste trabalho, a capacidade de produção de micotoxinas das espécies de *Aspergillus* associados à castanha-do-brasil não tenha sido avaliada, a simples detecção da presença desses organismos já é preocupante, indicando a

necessidade de um maior controle nos procedimentos de armazenamento assim como uma maior conscientização dos consumidores a respeito dos riscos envolvidos no consumo de alimentos contaminados por fungos (BRAZ et al., 2016).

Na recepção da indústria, as elevadas contagens de micro-organismos da amostra 7 (Tabela 1), coletada no exato momento em que chegou na indústria, confirmam que a contaminação pode ser proveniente das etapas da pré-coleta, coleta e armazenamento no campo ou ainda das condições inadequadas de transporte, visto que a amostra foi proveniente do município de Maués-AM, sendo transportada por três dias de barco até Óbidos.

Um dos principais objetivos do processamento das castanhas-do-brasil é a adequação dos níveis de contaminação por aflatoxinas a níveis aceitáveis para a comercialização, principalmente no mercado exterior que costuma ser mais exigente (SILVA, 2014). Para isso, o processamento das castanhas-do-brasil dispõe de várias etapas de tratamento térmico que tem como principal finalidade a redução da atividade de água, método eficaz no controle da produção de fungos e produção de aflatoxinas (PACHECO e SCUSSEL, 2007; VARGAS et al., 2011).

Após a secagem 1, as castanhas eram armazenadas de 10 a 14 dias, nesta etapa foi coletada a amostra 10 que apresentou elevada contagem de bolores e leveduras e *Aspergillus flavus* e *A.parasiticus*. De acordo com Johnsson et al., (2008) a partir de contagens de 2 a 3 log UFC/g de *Aspergillus flavus*, o risco de produção de aflatoxinas superior ao limite de 4 ng/g estabelecido pelo Mercado Europeu aumenta. No mesmo estudo, os autores sugerem que é necessário um período de 40 a 90 dias para a adaptação do fungo nas castanhas-do-brasil, sendo elas mantidas em condições ótimas, para que ocorra tal produção. Além disso, após eficiente secagem das castanhas-do-brasil, espera-se que o crescimento fúngico cesse, mas conídeos e aflatoxinas já formados podem permanecer.

Após período de armazenamento, as castanhas previamente secas são submetidas à autoclavagem seguida de breve resfriamento com água, depois desta etapa foram observadas reduções consideráveis na contaminação da amostra 11, além da contagem inferior a  $1 \times 10^1$  UFC/g de *Aspergillus flavus*. A utilização do calor úmido é um método eficiente para a redução microbiana devido ao mecanismo de morte causado pela desnaturação de ácidos nucléicos e proteínas. Além disso, em geral, a maioria dos micro-organismos apresenta resistência a inativação pelo calor seco (PERREN e FISCHER, 2010).

Em todas as etapas de armazenamento foram observados aumento nas contagens de micro-organismos, possivelmente atribuído a recontaminações, condições deficitárias de armazenamento ou ainda devido ao contato com equipamentos mal higienizados (MARTINS, 2008).

Na última etapa do processamento as castanhas foram embaladas através do sistema adotado na fábrica utilizando embalagem multicamada, com alumínio, de alta barreira e sob vácuo. A embalagem mostrou-se eficiente visto que foram identificadas as menores contagens de fungos e contagens  $<1 \times 10^1$  UFC/ g de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* no produto.

A maioria das pesquisas sobre a contaminação da castanha-do-brasil abordam o crescimento de fungos e produção de aflatoxinas, principalmente devido ao risco que eles representam para a saúde e as limitações impostas para a exportação. Contudo, como apresentado neste trabalho as castanhas também apresentam importante contaminação por bactérias.

Em estudo realizado por Najjari et al., (2008) sobre a microbiota da castanha-do-brasil, foram encontradas diversas bactérias nos ouriços e em amêndoas com casca. Dentre os micro-organismos presentes nas amêndoas com casca, pode-se citar os *Lactococcus garviae*, *Moraxella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Citrobacter koseri*, dos quais apenas o *Lactococcus garviae* não tem sido reportado como patógeno. O estudo também revelou que a microbiota do ouriço difere da microbiota presente nas amêndoas. Segundo Braz et al (2016) são necessários mais estudos nas áreas de investigação, prevenção e controle da contaminação de alimentos por fungos e outros micro-organismos.

De forma geral, os resultados apresentados tornam evidente a relação entre as condições e tempo de armazenamento e a qualidade das castanhas-do-brasil. Sendo o tempo o fator determinante para o crescimento microbiano. Durante o processamento a redução dos micro-organismos está relacionado principalmente a ação do calor. O beneficiamento é essencial em qualquer programa de produção de sementes, visto que aprimora as boas características do lote (FERREIRA e SÁ, 2010). Entretanto durante as etapas do beneficiamento devido ao manuseio e principalmente as sucessivas etapas de armazenamento, pelas quais o produto é submetido, é comum a ocorrência de recontaminações.

#### **4. Conclusões**

Até o momento da chegada na indústria as castanhas-do-brasil passam por várias oportunidades de contaminação, ainda nas arvores, através do contato com solo, transporte, armazenamento e outros. Com base nos resultados apresentados neste estudo, pode-se comprovar a relação direta entre as condições e tempo de armazenamento sob a qualidade microbiológica superficial das castanhas-do-brasil. Sendo o tempo de armazenamento caracterizado como o fator de maior influência no crescimento microbiológico.

Durante o beneficiamento das castanhas-do-brasil, o principal objetivo é a redução dos níveis de aflatoxinas aos limites impostos pelo mercado exterior. Entretanto durante todo o processo existem várias recontaminações, principalmente, devido às sucessivas etapas de armazenamento. Apesar do produto final apresentar ausência de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, não se pode afirmar que as castanhas estejam isentas de aflatoxinas, ou ainda que a quantidade apresentada esteja dentro dos limites recomendados.

## 5. Referências

- ALMEIDA, S. S.; SOUSA, D. G.; DO VALE, N. C. História natural, ecologia e técnicas de manejo em castanhais nativos do sul do Amapá. In: KANZAKI, Luis Isamu Barros (Org.). Desenvolvimento sustentável em áreas de extrativismo da castanha-do-brasil no sul do Amapá. Belém: Banco da Amazônia. p. 11-48, 2009.
- BAQUIÃO, A.C., LOPES, E.L. & CORRÊA, B., Molecular and mycotoxigenic biodiversity of *Aspergillus flavus* isolated from Brazil nuts, **Food Research International** (2016).
- BAQUIÃO, A.C; ZORZETE, P; REIS, T. A; ASSUNÇÃO, E.; VERGUEIRO, B.C., Myclora and mycotoxins in field samples of Brazil nuts. **Food Control**. V. 28, p. 224-229, 2013.
- BRANDL, M.T et al., Reduction of *Salmonella* Enteritidis population sizes on almond kernels with infrared heat. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 71, n.3, p. 897-902, 2008.
- BAYMAN, P.; COTTY, P.J. Vegetative compatibility and genetic diversity in the *Aspergillus flavus* population of a single field. *Can.J.Bot.*, v.69, p.1701-1711, 1991.
- BRAZ, C. O. V.; VIEIRA, V.; MARTINS, C.E.S. ; SANTOS, T. T. Contaminantes fúngicos associados à castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HUMB. & BOMPL.) comercializada em um município do interior do estado do Pará. **Revista Cereus** s.v.8, N3 .pag 19-34 v. 8, n. 3, UnirG, Gurupi, TO. set/dez. 2016.

CAMARA, C. R. S Indicadores de qualidade de amêndoas de castanha-de-caju em pedaços durante o processo industrial. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará. Ciência e Tecnologia de alimentos.

COTTY, P.J. Aflatoxin-producing potential of communities of *Aspergillus* section *Flavi* from cotton producing areas of the United States. **Mycol. Res.**, v. 101, p. 698-704, 1997.

DANYLUK, M.D.; UESUGI, A.R.; HARRIS, L.J Survival of *Salmonella* Enteritidis PT30 on almonds after commercial fumigation with peopylene oxide. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 68,n.8,p. 1613-1622, 2005.

DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.).Compendium of methods for the microbiological examinations of foods.4<sup>th</sup> ed. Washington (DC): APHA, 2001.

DU, WX.; DANYLUK, M.D.; HARRIS, L.J. Evaluation of cleaning treatments for almond .-contact surfaces in hulling and shelling facilities. **Food Protection Trends**, Des Moines, v. 27, n.9, p.678-683, 2007.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) 2009. Disponível em <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm091363.htm>> acesso em dezembro de 2016.

FERREIRA, H.; PITTNER, E; SANCHES, H. F.; MONTEIRO, M. C. Aflatoxinas: um risco a saúde humana e animal. *Ambiência Guarapuava*, PR v.2 n.1 p. 113-127 jan./jun. 2006.

FERREIRA, R.L; SÁ, M.E. de. Contribuição de etapas do beneficiamento na qualidade fisiologica de sementes de dois híbridos de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p.99-110, 2010.

ICMSF. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. *Microrganismos em alimentos 8: utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação de produto*. São Paulo: Blucher, 2015.

FREITAS-SILVA, O.; VENANCIO, A. Brazil nuts: benefits and risks associated with contamination by fungi and mycotoxins. **Food Research International**, vol. 44, no. 5, pp. 1434–1440, 2011.

FUNGARO, M.H.F; IAMANKA,B.T., Biodiversity of mycobiota throughout the Brazil nut supply chain: From rainforest to consumer. **Food Microbiology**. v, 61 pg.14-22, 2017.

JACKSON, C.R.; BELL, D.K. Diseases of peanut (groundnut) caused by fungi. *Stations Research Bulletin* n. 56. Universidade da Georgia, Athens, 1969.

JOHNSSON, P. Análise de fungos produtores de aflatoxina no *Apergillus Flavus Parasiticus* Agar (AFPA). Rio Branco: Embrapa/Acre. 25 a 27 outubro de 2006.

JOHN, J.A, SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) **Journal of Functional Foods 2** Department of Biochemistry,

Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland, Canada 196 – 209, 2010.

MARTINS, L; SILVA, Z.P.G; SILVEIRA, B, C; Produção e comercialização da castanha do brasil (*Bertholletia Excelsa, h.b.k*) no estado do Acre- Brasil, 1998-2006. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2008.

NAJJARI, A.; OUZARI, H.; BOUDABOUS, A.; ZAGOREC, M. Method for reliable isolation of *Lactobacillus sakei* strains originating from Tunisian seafood and meat products. **International Journal of Food Microbiology**, Philadelphia, v. 121, n. 3, p. 342-351, 2008.

OLSEN, M.; JOHNSSON, P.; MOLLER, T.; PALADINO, R.; LINDBLAD, M. *Aspergillus nomius*, an important producer in Brazil nuts? **World Mycotoxin Journal**, v 1, n. 2, p. 123-126, 2008.

PACHECO, A.M.; SCUSSEL, V.M. Selenium and aflatoxin level in raw Brazil nuts from Amazon basin. **J. Agric. Food Chem.** V.55, p. 11087-11092, 2007.

Pará. Secretaria de Estado de Planejamento, Orçamento e Finanças - SEPOF. Estatística Municipal: Óbidos. Belém; p. 7-8. 2012.

PENNACCHIO, H. L. Castanha-do-brasil – Proposta de preço mínimo safra 2006/2007. Editora Mapinguari. Brasília: p. 08-10. 2006.

PITT, J .I.; HOCKING, AILSA D.; GLENND, IANNRE. An improved medium for the detection of *Aspergillus fravus* and *A. parasiticus*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 54, 109-1 14. 1983.

PITT, J .I.; HOCKING, AILSA D.; GLENND, IANNRE. An improved medium for the detection of *Aspergillus fravus* and *A. parasiticus*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 54, 109-1 14. 1983.

REIS, T.A., OLIVEIRA, T.D., BAQUIÃO, A.C., GONÇALVES, S.S., ZORZETE, P.,CORRÊA, B.,2012. Mycobiota and mycotoxins in Brazil nut samples from diferente states of the Brazilian Amazon region. Int. **J . Food Microbiology**. 159, 61-68

SEGOVIA, J. F. O.; OLIVEIRA L O ; GONÇALVES M C A ; RESCK, I. S.; C A M SILVA; SILVEIRA D; GAVRILOV A V; GAVRILOVA L A KANZAKI, L. I. B. Botanical characterization, geographical distribution and phytochemistry analysis of *Manilkara huberi* (Ducke) Stanhl autochtonous in Amapá State, Brazil. Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus/Series of Biological Sciences, Belarus, v. 2, p. 30-40, 2011.

SILVA, A.A; SANTOS, M.K.V; GAMA, J.R.V; NOCE, R.; LEÃO, S.; Potencial do Extrativismo da Castanha-do-Pará na Geração de Renda em Comunidades da Mesorregião Baixo Amazonas, Pará. **Floresta e Ambiente.** n.20 pag: 500-510, 2013.

TANIWAKI, M.H; FRISVAD,J.C; FERRANTI,L.S; FERRANTI,L.S; LOPES,A.S; LARSEN,T.O; FUNGARO, M.H.F; IAMANKA,B.T., Biodiversity of mycobiota

throughout the Brazil nut supply chain: From rainforest to consumer. **Food Microbiology**. v, 61 pg.14-22, 2017.

VARGAS, E.A.; SANTOS, E.A.; WHITAKER, T.B.; SLATE, A.B. Determination of aflatoxin risk componentes for in-shell Brazil nuts. **Food Addit. Contam.**, v. 28, p. 1242-1260, 2011.

WILSON, T.M.; NELSON. P. E.; TOUSSOUN, T.A.; MARASAS, W.F. The *Fusarium* reseatch center and proposed diagnostic, reference and research center to *Fusarium* mycotoxicosis in animals. **Proc. Ann. Meet. Assoc. Vet. Lab. Diag.**, v. 24, p. 261-276, 1981.

## ANEXO 1

### DIRETRIZES PARA AUTORES

**Definição** - Publicação escrita em linguagem técnico- científica, contendo relato de um projeto ou subprojeto de Pesquisa e Desenvolvimento concluído.

**Objetivo** - Divulgar resultado completo de trabalho de pesquisa e desenvolvimento. Caracterização do conteúdo - Cada publicação desta série tratará de um assunto específico. Deve apresentar, com detalhe, informações correspondentes ao relato de um resultado de pesquisa científica, um método ou uma nova tecnologia (nova cultivar, técnica de manejo, maquinário, etc.) ou um resultado de pesquisa no campo socioeconômico.

**Público-alvo** - Público de nível profissional especializado, pesquisadores, agentes de assistência técnica, professores e estudantes de nível superior. Estrutura da publicação.

### Estrutura da publicação

#### Título

Deve ser claro e conciso e ter, no máximo, 15 palavras.

#### Sumário

#### Resumo e termos para indexação

Com, no máximo, 200 palavras, o resumo deve ser conciso e conter, resumidamente, o objetivo, o material e os métodos empregados na pesquisa, os resultados e a conclusão. Não deve apresentar citações bibliográficas, nem conter abreviaturas. Deve ser redigido com o verbo no passado, na terceira pessoa. O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo. Os termos para indexação devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula, inclusive o primeiro (exceto nome científico). Devem conter, no mínimo, três e, no máximo, seis termos, considerando que um termo pode possuir duas ou mais palavras. Não devem conter palavras que estejam no título. Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada. Título em inglês Abstract e index terms.

### **Introdução**

A introdução deve fornecer, com clareza, a justificativa para a realização do trabalho, situando a importância do problema científico a ser solucionado, e apresentando, se necessário, sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.

### **Material e métodos**

Apresentar a descrição do local, a data e os procedimentos utilizados conforme a natureza do trabalho. Descrever os materiais e os métodos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento. Os métodos devem estar intimamente relacionados com o objetivo do trabalho. Evitar detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente. Fórmulas, expressões ou equações matemáticas devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte. Fazer referências à análise estatística utilizada e informar a respeito das transformações dos dados.

### **Resultados e discussão**

Todos os dados apresentados devem ser discutidos a partir da citação de cada tabela ou figura. Tabelas e figuras são citadas sequencialmente, em ordem numérica. O texto não deve rerepresentar os dados das tabelas e das figuras, mas discutilos, isto é, compará-los com os apresentados por outros autores. Tabelas e figuras devem ser citadas no texto como: Tabela e Figura, seguidas do número correspondente. Fazer chamadas às tabelas ou às figuras no final da primeira

oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não fazer nova chamada. Não apresentar dados simultaneamente em tabelas e em figuras. Evitar abreviar os tratamentos e as variáveis. Evitar autocitação, por questões éticas e para maior validação do trabalho. Não fazer especulações ou afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados. Restringir a discussão aos dados obtidos, e relacionar os novos achados com os conhecimentos anteriormente obtidos. Designar os insumos e outros produtos, utilizados na pesquisa, por seus nomes técnicos, e não pelos nomes comerciais. Conclusões Usar frases curtas, sem comentários adicionais, elaboradas com base no objetivo do trabalho. Não podem consistir no resumo dos resultados; devem apresentar as novas descobertas da pesquisa. Usar o verbo no presente do indicativo. Não devem conter citações.

### **Agradecimentos**

Opcional.

### **Referências**

Devem conter fontes atuais, principalmente de artigos de periódicos. Podem conter, excepcionalmente, trabalhos clássicos mais antigos, diretamente relacionados com o tema do estudo. Devem obedecer ao padrão de referência da Embrapa.