

Capítulo 1

Fungos e micotoxinas: estratégias de controle

Maria do Socorro Souza Ribeiro; Rivadalve Coelho Gonçalves; Virgínia de Souza Álvares; Jurema do Socorro Azevedo Dias; Laura Figueiredo Abreu; Daniel Augusto Schurt; Hyanameyka Evangelista de Lima Primo; Otniel Freitas-Silva

Introdução

As amêndoas de castanha-da-amazônia apresentam sabor agradável e elevado valor nutritivo, o que garante benefícios à saúde. Contudo, devido às condições naturais da floresta, está sujeita a contaminações por microrganismos (Baquião et al., 2012; Cardoso et al., 2017).

Em condições favoráveis, algumas espécies fúngicas podem produzir micotoxinas, que são um amplo grupo de metabólitos secundários fúngicos que exercem múltiplos efeitos tóxicos em humanos e animais. Após ingeridas, em pequenas ou grandes quantidades, as micotoxinas acarretam quadro clínico grave de doenças denominadas micotoxicoses, que podem ser doenças crônicas ou agudas (Peraica, 2016). Os sintomas iniciais da toxicidade aguda são: alta temperatura corporal, vômitos e dor abdominal, seguidos de anorexia, depressão, icterícia, diarreia e fotossensibilidade. Algumas micotoxinas podem causar doenças autoimunes, têm propriedades alergênicas e algumas são teratogênicas, carcinogênicas, mutagênicas, nefrotóxicas ou estrogênicas (Mycotoxins..., 2003). As principais micotoxinas são produzidas pelos gêneros fúngicos *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (Marín; Ramos, 2016). Embora centenas de micotoxinas tenham sido descritas, os grupos mais relevantes encontrados em alimentos e rações são as aflatoxinas (AF), ocratoxinas (OTA), fumonisinas (FUM), zearalenona (ZEA), patulina (PAT) e o amplo grupo de tricotecenos. Além disso, há as micotoxinas emergentes, relacionadas ao *Fusarium* (fusaproliferina, moniliformina, beauvericina e eniatiatinas) (Marín et al., 2013).

Na castanha-da-amazônia, em virtude da predominância de espécies do gênero *Aspergillus* seção *Flavi*, as micotoxinas mais recorrentes são as aflatoxinas (Taniwaki

et al., 2017). De forma geral, *Aspergillus flavus* produz somente aflatoxinas B, enquanto *Aspergillus nomius* e *Aspergillus parasiticus* são produtores dos quatro tipos de aflatoxinas (B e G) (Prado et al., 2008). Existem mais de 20 tipos de moléculas de aflatoxinas, embora as mais predominantes sejam as aflatoxinas B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁), G₂ (AFG₂), M₁ (AFM₁) e M₂ (AFM₂). Aflatoxinas dos grupos B e G são tipicamente relatadas em produtos alimentares (cereais, especiarias e frutos secos), e os produtos do metabolismo de aflatoxinas, como AFM₁ e AFM₂, são verificados no leite (Akhtar et al., 2017).

As principais aflatoxinas podem ser diferenciadas por meio de suas fluorescências. A aflatoxina B₁ (AFB₁) e a aflatoxina B₂ (AFB₂) emitem fluorescência azul (*blue*), e as aflatoxinas G₁ (AFG₁) e G₂ (AFG₂) emitem fluorescência verde (*green*). A AFB₁ é conhecida como um agente natural que representa mais risco à saúde por causa da sua maior toxicidade, sua elevada hepatotoxicidade e seu alto potencial carcinogênico (Marklinder et al., 2005; Veiga et al., 2009; Carvajal, 2013) em humanos e animais, incluindo primatas, pássaros, peixes e roedores (Yu, 2012).

As aflatoxinas são moléculas que, após formadas, dificilmente serão eliminadas, pois são estáveis ao calor, sendo decompostas a temperaturas de cerca de 220 °C (Manual..., 2004; Taniwaki et al., 2017). São destruídas por agentes oxidantes fortes, como cloro e ozônio; em virtude da presença do anel lactona, são susceptíveis à ação de base (Freitas-Silva et al., 2013). Apresentam baixo peso molecular, são bastante solúveis em solventes moderadamente polares, como o clorofórmio, metanol, dimetilsulfóxido, e pouco solúveis em água. Elas são particularmente sensíveis à luz ultravioleta, principalmente quando dissolvidas em soluções polares, e são destruídas por autoclavagem em presença de amônia e por tratamento com hipoclorito (World Health Organization, 1979; Carvajal, 2013).

As consequências de longo prazo do consumo de aflatoxina B₁ (AFB₁) são lesão hepática crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular primário (Peraica, 2016). Devido à ação silenciosa das micotoxinas na toxicidade crônica, pela ingestão de pequenas quantidades nos alimentos, a percepção do problema na saúde humana é difusa e requer abordagem preventiva com limites rigorosos, à semelhança do que vem sendo adotado por diversos países e pela comunidade europeia.

A incidência de espécies micotoxigênicas em castanhas é comum. Em estudo sobre a microbiota da castanha-da-amazônia ao longo da sua cadeia produtiva, o gênero *Aspergillus* foi predominante e amplamente identificado; entretanto

as espécies pertencentes ao gênero *Penicillium*, *Eurotium* spp., *Zygomycetes* e fungos dematiáceos também foram encontrados. Espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus*, *A. flavus* e *A. parasiticus*, dois fungos com fase saprófitas, tiveram ampla distribuição nas amostras estudadas, com muitos isolados capazes de produzir aflatoxinas, além da neurotoxina ácido ciclopiazônico (Taniwaki et al., 2017). Esses mesmos autores também encontraram outros *Aspergillus* da seção *Flavi*, como *A. arachidicola*, *A. bertholletius*, *A. bombycis*, *A. caelatus*, *A. pseudocaelatus*, *A. pseudonomius*, *A. pseudotamarii* e *A. tamarii*, presentes nas sementes e produzindo algum tipo de micotoxina (Taniwaki et al., 2017). Segundo Midorikawa et al. (2014), as espécies *A. flavus* e *A. nomius* são as mais abundantes em castanha-da-amazônia.

A contaminação por fungos aflatoxigênicos e aflatoxinas pode ocorrer em toda a cadeia produtiva da castanha-da-amazônia; entre os fatores ambientais mais relevantes para a produção de aflatoxinas, estão a temperatura e a umidade relativa do ar (Baquião et al. 2012; Taniwaki et al. 2017). Devido à dificuldade de identificação e eliminação das aflatoxinas após a sua produção, visto que são compostos químicos que não alteram a coloração nem o cheiro dos alimentos, além de altamente resistentes aos tratamentos de desinfecção disponíveis, atualmente o controle desses compostos na cadeia produtiva da castanha está baseado em medidas preventivas para evitar a colonização e o crescimento de fungos aflatoxigênicos nas sementes, bem como a prevalência de condições favoráveis à produção das aflatoxinas. Entre essas medidas, é citada a diminuição do tempo de permanência dos frutos no solo e o controle da umidade e da temperatura do ar no armazenamento (Baquião et al., 2012; Carjaval, 2013).

O controle dos contaminantes em castanhas-da-amazônia é de grande relevância, tanto no contexto econômico quanto para a saúde pública. As exportações de castanha-da-amazônia têm sido bastante prejudicadas devido à dificuldade técnica de produção de amêndoas sem aflatoxinas ou com níveis menores que os estabelecidos como limites aceitáveis em cada país importador. As estratégias atuais de mitigação da contaminação em castanhas-da-amazônia concentram-se em impedir o crescimento fúngico, por meio do atendimento às boas práticas extrativistas e do controle de armazenamento e processamento (Freitas-Silva; Venâncio, 2011; Ribeiro et al., 2020). Diante da importância desse contexto, neste capítulo serão apresentados dados sobre a contaminação de castanhas-da-amazônia e as possíveis estratégias para controle nas fases de pré-coleta e pós-coleta da exploração florestal.

Etapas da coleta e do armazenamento inicial e riscos de contaminação fúngica

A contaminação das castanhas-da-amazônia pode ter início nas árvores, por meio do ataque de animais que podem danificar e depositar microrganismos nos ouriços, os quais são os frutos da castanheira. Contudo, a frequência de fungos micotoxigênicos em sementes dos ouriços coletados na copa das árvores é muito baixa e não representa risco biológico. Devido à impossibilidade de coleta dos ouriços nas árvores, por conta da altura, isso ocorre após a queda natural dos frutos. O contato direto destes por muito tempo com a serapilheira e o solo, que são reservatórios de fungos aflatoxigênicos, é considerado uma via importante de contaminação (Reis et al., 2012). As etapas de transporte e armazenamento, sejam nas comunidades, sejam nas indústrias, também são momentos importantes para o desenvolvimento de diversos microrganismos, como fungos e bactérias (Reis et al., 2012).

O sistema de produção da castanha, por ser predominantemente extrativista em floresta nativa, não envolve investimentos tecnológicos no processo de coleta, amontoa e quebra dos ouriços na unidade produtiva, nem mesmo transporte imediato para armazéns adequados ou diretamente para a indústria de beneficiamento (Manual..., 2004). A mão de obra utilizada na coleta dos ouriços é basicamente familiar ou multifamiliar; a coleta é realizada em grupo, e os ouriços são amontoados em pequenos pátios improvisados dentro da floresta. Após os frutos serem coletados e amontoados, os extrativistas cortam os frutos com facão (“terçado”), foice ou machado no mesmo dia da coleta ou depois de alguns dias, de acordo com a organização do trabalho e o fluxo da coleta. A operação de abertura dos frutos é denominada quebra da castanha, e o dia da operação florestal é conhecido como dia de quebra da castanha. O transporte das sementes do interior da floresta, de onde os ouriços foram quebrados, até a primeira via de melhor acessibilidade, terrestre ou fluvial, pode ser definido como transporte primário do recurso florestal até um ponto de armazenamento temporário (Silva et al., 2013).

Em algumas comunidades, com florestas localizadas próximas aos rios e igarapés, há a lavagem das castanhas para a retirada de impurezas físicas, o que pode também reduzir a população de microrganismos nocivos. Entretanto, se a secagem posterior não for eficiente ou se o armazenamento ocorrer com as castanhas úmidas, o desenvolvimento de fungos aflatoxigênicos será potencializado (Manual..., 2004).

As práticas de armazenamento primário das sementes variam de acordo com a situação. De acordo com Silva et al. (2013), no município de Óbidos, PA, isso é feito na própria residência do produtor, em razão de as áreas de produção estarem mais próximas às casas; praticamente toda a produção é retirada da floresta após a quebra da castanha. Já em Oriximiná, PA, as sementes podem permanecer armazenadas na floresta por um tempo de até 5 meses (período de safra), e o armazenamento fora da floresta, geralmente, é feito em paióis ou depósitos de madeira, com acondicionamento em sacos ou a granel. No Acre, como as áreas de coleta estão próximas das residências, na maioria das localidades, os extrativistas amontoam os ouriços em um dia para quebrá-los e transportar as castanhas no dia seguinte para o armazém. Nesse caso, não existe armazenamento na floresta, e as castanhas passam por uma pré-secagem em armazém pré-secador antes da conservação primária.

Beneficiamento em agroindústrias

Um dos principais desafios do beneficiamento das castanhas-da-amazônia é a adequação dos níveis de contaminação por aflatoxinas a níveis aceitáveis para a comercialização, principalmente no mercado exterior, que é mais exigente (Silva et al., 2013) e protetivo à saúde. Para isso, no beneficiamento, é realizado o tratamento térmico, que tem como principal finalidade a redução da atividade de água das amêndoas, método eficaz no controle de fungos e na produção de aflatoxinas (Pacheco; Scussel, 2007; Varga et al., 2011).

Na etapa de recepção das sementes, é feita a pesagem e uma avaliação visual das castanhas para mensuração da qualidade do produto. A pesagem é necessária para que se tenha uma ideia da quantidade a ser beneficiada, desde a quantidade a ser colocada na autoclave até o resfriamento final (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, 2007).

Em algumas agroindústrias, é realizado o processo de lavagem, por imersão da castanha-da-amazônia, ainda com casca, em água à temperatura ambiente. A finalidade dessa etapa é a remoção do excesso de matéria orgânica, partículas inorgânicas e folhas que ainda estejam aderidas às castanhas, além de ajudar na identificação de castanhas chochas por diferença de densidade com flutuação. No Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da Castanha-da-Amazônia, é recomendado o controle da água com teor de cloro ativo de 0,5 ppm a 0,8 ppm (partes por milhão) (Manual..., 2004).

Em seguida, as castanhas passam por secagem preliminar, de preferência com auxílio de secadores artificiais (Silva et al., 2013). O controle da umidade inibe o crescimento de microrganismos, sendo recomendado manter a umidade no lote de sementes entre 13% e 15%, como uma faixa limite de segurança segundo o Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Commission, 2006).

Depois de secas, as castanhas passam por pré-seleção manual para a retirada de sementes visualmente danificadas ou mofadas (Manual..., 2004). Posteriormente, é realizado o tratamento térmico; este pode ser feito por imersão das sementes com casca em tanques com água em temperatura de 100 °C por 1 minuto a 2 minutos ou por autoclavagem em temperatura de 250 °C por 2 a 5 segundos. O tratamento térmico tem como objetivo a preparação das sementes para o descascamento, pois expande o volume da casca, descola a amêndoa e facilita a quebra da castanha sem danificar as amêndoas (Pacheco; Scussel, 2006).

O processo de quebra do tegumento da semente é realizado pela prensagem com prensa manual ou por impacto em tubo vertical com eixo aletado. Em seguida, as amêndoas são selecionadas e classificadas de acordo com sua integridade física e seu tamanho. A classificação pode ser realizada manualmente ou por meio de equipamento específico, dotado de peneiras cilíndricas horizontais giratórias (Manual..., 2004; Martins et al., 2008). Após esse procedimento, as amêndoas são novamente submetidas à secagem em estufas para a redução da umidade para a faixa de 4% a 10%, sob temperatura de 60 °C. Finalizada a etapa de desidratação, as amêndoas são pesadas e embaladas ou destinadas a processos de obtenção de óleo e outros subprodutos (Pacheco; Scussel, 2007; Ouro Verde Amazônia, 2014).

Aspectos da contaminação fúngica

A forma como os ouriços e as sementes são armazenadas pode ser considerada um ponto crítico para a qualidade das castanhas, pois, independentemente da contaminação inicial das sementes, de acordo com a forma e duração do armazenamento, haverá maior ou menor possibilidade de desenvolvimento de fungos produtores de aflatoxinas (Taniwaki et al., 2017). Contudo, não somente os fungos produtores de aflatoxinas são importantes para a qualidade das amêndoas como alimento humano. Outros fungos micotoxigênicos, ou mesmo aqueles que não produzem substâncias tóxicas conhecidas, mas que causam podridão das sementes, são importantes por constituírem a microbiota natural deterioradora

das sementes, a qual precisa ser estabilizada ou preferencialmente eliminada, o mais rápido possível, da matéria-prima que deverá ir ao processamento seguinte. Assim, o teor de umidade das amêndoas no início do armazenamento não pode ser elevado, mesmo que haja correlação negativa com a contaminação por fungos filamentosos totais e potencialmente aflatoxigênicos (Costa et al., 2016).

A diversidade dos fungos que ocorrem nas sementes varia com o tempo de exposição dos frutos no chão da floresta e com as árvores das quais são colhidos; em um estudo realizado em 2006, na Embrapa Acre, em Rio Branco (Figuras 1 e 2), foram detectados 11 gêneros diferentes de fungos em sementes retiradas de frutos colhidos diretamente das árvores, com alta frequência de *Lasiodiplodia theobromae*, patógeno típico de sementes florestais (Gonçalves et al., 2006). Nos frutos mantidos em gaiolas no chão, foram identificados *Acremonium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Mycelia sterilia*, *Phaeoacremonium* spp., *Clonostachis* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *A. niger* e *A. flavus* (Gonçalves et al., 2006).

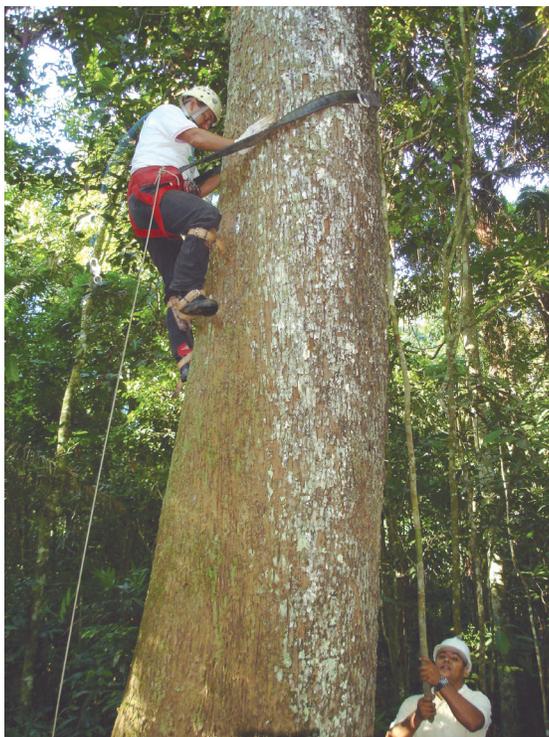


Foto: Rivaldave Coelho Gonçalves

Figura 1. Escalada de uma árvore de castanheira-da-amazônia para coleta de frutos para o estudo de contaminação fúngica x tempo de exposição de frutos no chão da floresta.



Figura 2. Frutos protegidos em gaiolas contra o ataque de fauna (A) e detalhe da coleta dos frutos para envio ao laboratório para análise de fungos (B).

De maneira semelhante à castanha-da-amazônia, nas nozes também é frequente encontrar contaminação fúngica por outras espécies micotoxigênicas de *Aspergillus*, como *A. ochraceus* ou *A. carbonarius*, capazes de produzir nefrotoxina chamada ocratoxina A (OTA) (Marín; Ramos, 2016). Entretanto, entre as micotoxinas conhecidas, as aflatoxinas representam a maior ameaça à saúde humana e animal.

De acordo com Baquião et al. (2013), as castanhas-da-amazônia são substratos susceptíveis à contaminação por fungos produtores de micotoxinas. Nesse sentido, o estudo destaca a etapa de permanência dos ouriços em contato com o solo como principal via de contaminação. Contudo, essa afirmação ainda é controversa, uma vez que Leite et al. (2014) relatam que a incidência de *A. flavus* e *A. parasiticus* não é significativamente afetada pelo tempo de permanência dos ouriços na floresta até 60 dias e que o aparecimento de aflatoxinas pode estar relacionado com práticas pós-coleta, como o armazenamento das castanhas.

A contaminação por fungos produtores de aflatoxinas também é considerada elevada nas usinas de beneficiamento, mesmo com a adoção de medidas como o descascamento e a seleção visual das amêndoas, entre outros procedimentos para a redução dos níveis de contaminação. Desse modo, não é possível afirmar, após o beneficiamento, se a castanha está, ou não, contaminada por aflatoxinas, o que poderá desencadear a necessidade de modificações no processo de produção (Marklinder et al., 2005; Baquião et al., 2012).

Regulamentações vigentes para aflatoxinas

Muitos países adotaram regulamentos para limitar a contaminação de alimentos por micotoxinas. A presença delas não está apenas relacionada ao efeito sobre a saúde do consumidor, mas também ao seu impacto no comércio mundial. Em 2010, a normativa nº 165/2010 da Comissão Europeia trouxe especificações mais tolerantes para a importação da castanha-da-amazônia pelos países europeus associados, com valores de $8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para a AFB₁ e $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para aflatoxinas totais (AF_t) em castanha-da-amazônia com casca, na fase anterior ao consumo humano ou preparo de alimentos. Para amêndoas destinadas ao consumo direto, o limite é de $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para a AFB₁ e de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de aflatoxinas totais (European Union, 2010).

O regulamento que determina os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos, incluindo os de aflatoxinas na castanha-da-amazônia, é a RDC nº 487, de 26 de março de 2021 (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2021). Foram considerados LMT de $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$, $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ e $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para castanhas-da-amazônia com casca, destinadas ao consumo direto; sem casca para consumo direto; e sem casca para processamento posterior, respectivamente. A criação dessa norma representou grande avanço para o mercado nacional e diminuiu o risco de lotes rejeitados no exterior serem comercializados no mercado brasileiro, o que garante maior qualidade do produto e segurança alimentar do consumidor brasileiro.

As medidas para prevenção e redução de contaminação por aflatoxinas (MPRCA) e as medidas de higiene e manejo (MHM) na cadeia produtiva da castanha-da-amazônia são estabelecidas para todas as etapas e fases da cadeia de produção. Elas têm como objetivo prevenir o desenvolvimento dos fungos *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* e controlar a consequente contaminação por aflatoxinas, bem como o desenvolvimento de outros contaminantes na cadeia produtiva da castanha-da-amazônia (Brasil, 2010). De acordo com Taniwaki et al. (2017), as castanhas que são comercializadas nos supermercados brasileiros e as que são exportadas apresentam baixos níveis de aflatoxinas.

Estratégias para controle de fungos e aflatoxinas

A contaminação das castanhas-da-amazônia tem estimulado o estudo de diversos métodos que visam à eliminação ou redução das concentrações de

fungos micotoxigênicos e aflatoxinas. Estratégias convencionais para redução de micotoxinas incluem mecanismos de prevenção e descontaminação, o que tem sido um desafio contínuo para a indústria de alimentos. Nesse sentido, novos métodos de processamento têm sido continuamente explorados para a obtenção de degradação completa das aflatoxinas em produtos alimentícios (Pankaj et al., 2018).

Estratégias de controle na etapa I – Pré-coleta

O controle de espécies de *Aspergillus* no estágio pré-coleta deve ser preventivo para evitar a infecção ou colonização das sementes, de modo a reduzir a contaminação das castanhas por aflatoxinas. Para isto, recomenda-se a adoção das boas práticas florestais de produção no manejo da castanha-da-amazônia, por exemplo, a redução do tempo de contato dos ouriços com o solo e a seleção das castanhas, em que se eliminam aquelas quebradas e visivelmente deterioradas (Manual..., 2004; Baquião et al., 2012). A coleta precoce com pouco tempo de exposição dos frutos no chão da floresta é uma medida importante para evitar a infecção das sementes por espécies de fungos aflatoxigênicos, conforme estudo realizado por Gonçalves et al. (2006), com a avaliação do tempo de exposição dos frutos no chão da floresta entre 0 dia e 120 dias.

Estratégias de controle na etapa II – Pós-coleta

Nos estágios iniciais da pós-coleta, a separação física das castanhas contaminadas pode ser útil para reduzir os níveis de aflatoxinas em todo o lote (Ismail et al., 2018). No entanto, a efetivação dessa medida requer testes de sanidade de sementes para os fungos deteriorantes de sementes e produtores de aflatoxinas, feitos em laboratório, o que ainda não se implementou no sistema de produção. Adicionalmente, poder-se-ia empregar testes laboratoriais para a detecção de aflatoxinas nas amêndoas por visualização de fluorescência em câmara escura a olho nu, validados com ensaios laboratoriais considerados padrão pelos órgãos oficiais de controle. Magan e Olsen (2004), em estudo para a redução de aflatoxinas em alimentos, destacam o uso da luz ultravioleta (365 nm) para detecção de aflatoxinas em grãos, visto que esses compostos emitem fluorescência quando contaminados com aflatoxinas, o que possibilita a separação de grãos e partículas contaminadas de forma eficaz (Oliveira; Corassin, 2014). Colônias de *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. flavus* e *A. spp.* (134) isolados de castanha-da-amazônia, em teste de fluorescência em meio de cultura, são mostradas na Figura 3.

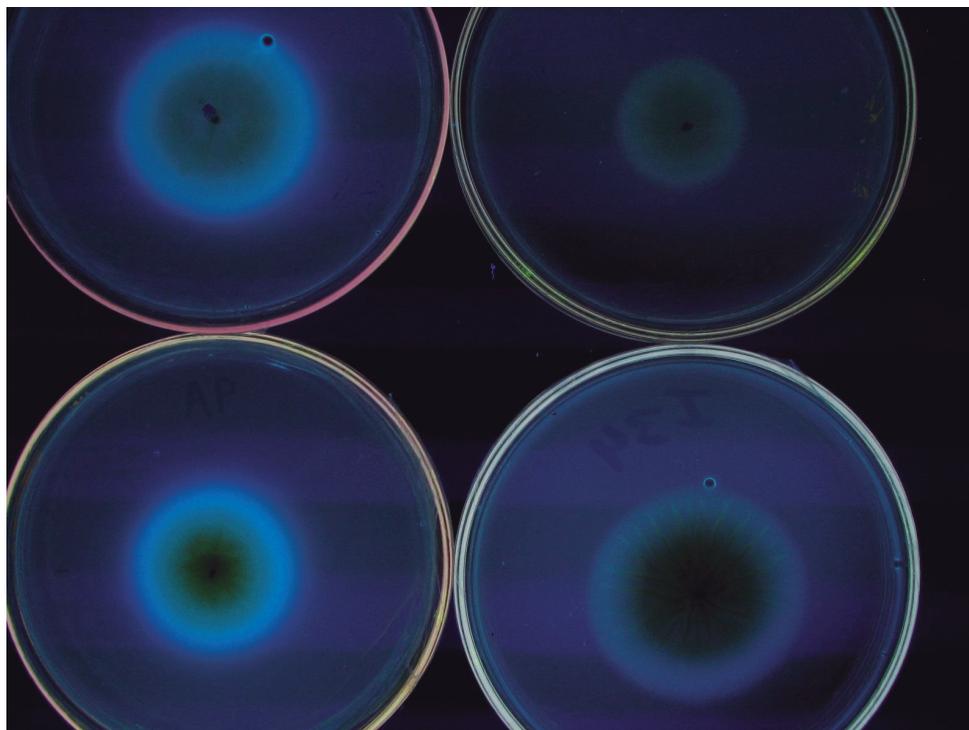


Figura 3. Potencial aflatoxigênico de fungo isolado de castanha-da-amazônia, em teste de fluorescência, em câmara escura com luz ultravioleta (365 nm). *Aspergillus parasiticus* (+), *Aspergillus nomius* (+) e *Aspergillus flavus* (-): isolados de referência por espécie com resultado positivo (+) ou negativo (-). *Aspergillus*. spp. (I34) (+): isolado de castanha-da-amazônia com resultado positivo para produção de aflatoxinas B.

O processo de secagem tradicional da castanha em armazéns-secadores, ainda nas propriedades dos extrativistas, é realizado por revolvimento diário das castanhas com casca por, aproximadamente, 15 dias; isso é considerado uma pré-secagem importante por parte desse elo da cadeia, mas extremamente longo e dependente das condições ambientais. O processo de secagem convencional em equipamentos também pode exigir longos tempos de aplicação, por exemplo, 36 horas em um secador rotativo ou estacionário. Se essa etapa não for executada adequadamente, não haverá garantias quanto às infestações subsequentes durante o armazenamento. Assim, ainda que a secagem convencional possa ser realizada por convecção natural do ar (à sombra ou à luz do sol) e por ar quente, a secagem artificial pode melhorar o desempenho em termos de redução do teor de umidade

e atingir cerca de 9,7% após 48 horas (Gonçalves et al. 2010). Para acelerar o processo, Costa et al. (2017) recomendaram ainda a pré-secagem da castanha, com casca, por meio de um forno por convecção natural. Esse procedimento é eficiente para reduzir a umidade das castanhas em 39,7% em 6 horas de secagem, na temperatura de 45 °C – temperaturas superiores podem rachar a casca da castanha e prejudicar o produto destinado à comercialização com casca.

O armazenamento das castanhas com casca, a qual consiste em barreira de proteção contra a entrada de fungos, deve ser conduzido sob condições ideais de temperatura e umidade (Freitas-Silva; Venâncio, 2010). Para fungos aflatoxigênicos, a faixa ótima de temperatura consiste entre 28° C e 37 °C (Yu, 2012), enquanto o limite de 13% a 15% de umidade é recomendado pelo Codex Alimentarius para inibir o crescimento de microrganismos e garantir a segurança dos alimentos (Codex alimentarius commission, 2006).

Pesquisas para a prevenção de aflatoxinas realizadas na cultura do amendoim sugerem ainda o uso de agentes de biocontrole, melhoramento genético de plantas para a resistência e a previsão de risco de aflatoxinas para colheita precoce. A competição por espaço, água e nutrientes é um mecanismo de biocontrole, que envolve interação entre microrganismos – de um lado, os agentes antagonistas; de outro, os patógenos. Eles competem por recursos e causam a inibição do crescimento e da capacidade de proliferação das populações dos patógenos (Marín; Ramos, 2016). Reduções significativas e consistentes na contaminação por aflatoxinas (entre 70% e 90%) foram observadas em experimentos de campo de amendoim que usaram cepas não toxigênicas de *Aspergillus*. Apesar de estudos sobre o uso do biocontrole em plantios de castanha-da-amazônia não terem sido encontrados na literatura, essa estratégia mostrou-se promissora para outras culturas (Dorner, 2008). No entanto, a contaminação pré-colheita por micotoxinas ainda é altamente dependente das condições climáticas (Marín; Ramos, 2016).

Estratégias de controle na etapa III – Beneficiamento

Tratamento térmico

No processo de beneficiamento da castanha-da-amazônia, é realizada a secagem inicial para reduzir a atividade de água e, conseqüentemente, controlar o crescimento de fungos e a produção de aflatoxinas (Pacheco; Scussel, 2007; Varga et al., 2011). Nesse sentido, o controle da umidade para níveis entre 13%

e 15% inibem o crescimento de microrganismo na castanha (Codex alimentarius comission, 2006).

A secagem convencional com secadores a ar aquecido tem efeito negativo no crescimento fúngico e estanca a atividade de produção de aflatoxina, mas não altera a quantidade de aflatoxinas já existente no lote de sementes devido à elevada estabilidade dessas substâncias. As temperaturas de decomposição das aflatoxinas variam de 237 °C a 306 °C, sendo a AFB₁ a mais estável (Carjaval, 2013) e detectável em amêndoas que passam pelo processo de autoclavagem a 250 °C. A degradação da aflatoxina por operações térmicas foi revisada por Samarajeewa et al. (1990) e Kabak (2009), e ambos constataram a alta estabilidade desses compostos no aquecimento. Apesar da grande estabilidade térmica das aflatoxinas (Jager et al., 2013), a eficiência dos tratamentos térmicos utilizados para a detoxificação de micotoxinas geralmente depende de fatores como temperatura de aquecimento, tempo de exposição, tipo de alimento e teor de umidade (Rustom, 1997).

Ozônio

A aplicação do ozônio (O₃) tem sido apontada como uma das ferramentas mais promissoras para garantir a segurança alimentar (Freitas-Silva; Venâncio, 2010). Sua utilização tem ganhado destaque por ser uma tecnologia ecologicamente amigável e com elevado potencial para redução da carga microbiana e controle de aflatoxinas, o que mostra seu potencial para o tratamento de castanhas-da-amazônia (Freitas-Silva et al., 2013; Ismail et al., 2018; Oliveira et al., 2020).

A utilização do ozônio em alimentos foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA), órgão regulador dos EUA, que o classificou como um produto seguro (GRAS – Generally Recognized As Safe); seu uso também foi aprovado no Canadá, no Japão e na Europa (O'Donnell et al., 2012). A ozonização é um tratamento químico que envolve a exposição dos alimentos ou um produto intermediário ao O₃ e pode ser aplicado na forma gasosa ou dissolvido em solução aquosa. A aplicação de gás é o método mais útil, porém ambos os métodos se mostram eficazes na redução de doenças pós-colheita, na redução da viabilidade de fungos potencialmente produtores de micotoxinas e na degradação destas (Guzel-Seydim et al., 2004; Freitas-Silva; Venâncio, 2011).

Além de ser capaz de inativar microrganismos, o gás ozônio tem sido proposto como agente de degradação para micotoxinas (Cullen et al., 2009), especialmente as aflatoxinas (Alencar et al., 2012; Chen et al., 2014). Nesse contexto, o ozônio atua por ataque direto ou pelo ataque dos radicais hidroxila (OH⁻) formados na decomposição do O₃. A eficiência da ozonização no controle de fungos e espécies que potencialmente produzem aflatoxinas no amendoim foi demonstrada por Alencar et al. (2012) e Chen et al. (2014). Os resultados desses estudos indicaram que o gás ozônio a 21 mg L⁻¹, durante 96 horas de exposição, reduziu até 3 ciclos log de unidades formadoras de colônias de fungos e promoveu reduções de 25% nos níveis de AFB₁.

Giordano et al. (2010) mostraram que o tratamento com O₃ por 5 horas a 31 mg L⁻¹ inibiu a viabilidade de fungos da microbiota contaminadora de nozes, incluindo os *Aspergillus* aflatoxigênicos. Scussel et al. (2011) também relataram o potencial de ozônio gasoso para tratar a castanha-da-amazônia, sendo sua atividade aumentada quando associado ao vácuo. Em estudo desenvolvido por Freitas-Silva et al. (2013), o ozônio mostrou-se eficaz, em baixas dosagens (20 mg L⁻¹) e em curto período de exposição, para a desinfecção de castanhas contaminadas com fungos aflatoxigênicos, e o efeito desse sanitizante foi quase instantâneo.

Em estudo mais recente, desenvolvido por Oliveira et al. (2020), o ozônio mostrou-se eficiente para a inativação de *A. flavus* na castanha-da-amazônia, pois causou redução na contagem de microrganismos superior a 3,10 ciclos log, em concentração de 8,88 mg L⁻¹ e em período de exposição de 4 horas. Aspectos importantes que podem ser citados nesses trabalhos é que o ozônio tem se mostrado eficiente em baixas concentrações para a redução de microrganismos e que mantém as características sensoriais da castanha-da-amazônia (Freitas-Silva et al., 2013; Oliveira et al., 2020).

Considerações finais

A contaminação da castanha-da-amazônia por fungos e micotoxinas é comum e frequente e ocorre ao longo de toda sua cadeia produtiva, principalmente devido às condições de armazenamento inadequadas. O risco à saúde que esses contaminantes apresentam tem justificado a exigência de maior qualidade nos produtos para a exportação e, conseqüentemente, maior fiscalização com relação aos limites regulatórios, inclusive para o Brasil. Em razão da dificuldade

de eliminação de aflatoxinas em condições de processamento industrial, a adoção das boas práticas de produção na exploração florestal das sementes, iniciadas na fase de pré-coleta, seguida de boas práticas de armazenamento, com secagem imediata após a coleta e os tratamentos sanitizantes, podem ser consideradas como as medidas atuais mais apropriadas para controlar fungos deterioradores de sementes e, conseqüentemente, reduzir a contaminação por aflatoxinas em castanhas-da-amazônia. A adoção de tecnologias de coleta, pré-armazenamento, armazenamento e beneficiamento, bem como dos métodos recomendados para a produção de castanhas de alta qualidade, não é homogênea nas áreas de produção na Amazônia e constitui-se em um desafio para os produtores florestais desse importante recurso não madeireiro, os quais ajudam a proteger a floresta primária na Amazônia e têm suas famílias sustentadas economicamente pela floresta.

Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 487 de 26 de março de 2021. Dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos, os princípios gerais para o seu estabelecimento e os métodos de análise para fins de avaliação de conformidade. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 31 mar. 2021, Seção 1. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-487-de-26-de-marco-de-2021-311593455>. Acesso em: 19 jul. 2021.
- AKHTAR, S.; SHAHZAD, M. A.; YOO, S. H.; ISMAIL, A.; HAMEED, A.; ISMAIL, T. Determination of aflatoxin M1 and heavy metals in infant formula milk brands available in Pakistani markets. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 37, n. 1, p. 79-86, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5851%2Fkosfa.2017.37.1.79>.
- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D.; SOARES, N. F. F.; SILVA, W. A.; CARVALHO, M. C. S. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 899-905, Mar. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4668>.
- BAQUIÃO, A. C.; ZORZETE, P.; REIS, T. A.; ASSUNÇÃO, E.; VERGUEIRO, B. C. Mycoflora and mycotoxins in field samples of Brazil nuts. **Food Control**, v. 28, n. 2, p. 224-229, Dec. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.004>.
- BAQUIÃO, A. C.; DE 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**, v. 76, n. 8, p. 1414-1420, Aug. 2013. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-005>.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 22 de março de 2010. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 23 mar. 2010, Seção 1. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/normativos-cgqv/csh_pov/IN11.pdf/view. Acesso em: 27 abr. 2021.
- CARVAJAL, M. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. **TIP: Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v. 16, n. 2, p. 109-120, 2013. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72082-5](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72082-5).

- CARDOSO, B. R.; DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; COZZOLINO, S. M. F. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**, v. 100, part 2, p. 9-18, Oct. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.036>.
- CHEN, R.; MA, F.; LI, P. W.; ZHANG, W.; DING, X. X.; ZHANG, Q.; LI, M.; WANG, Y. R.; XU, B. C. Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. **Food Chemistry**, v. 146, p. 284-288, Mar. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.059>.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **CAC/RCP 59-2005**: code of practice for the prevention and reduction of aflatoxinas contamination in tree nuts. Rome, Italy, 2006. 9 p.
- COSTA, D. A.; ÁLVARES, V. S.; NOGUEIRA, R. M.; KUSDRA, J. F.; MACIEL, V. T.; MIQUELONI, D. P. Quality of Brazil nuts stored in forced aeration silos. **Revista Ceres**, v. 63, n. 3, p. 305-314, maio/jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X201663030005>.
- COSTA, D. A.; ÁLVARES, V. S.; KUSDRA, J. F.; NOGUEIRA, R. M.; MACIEL, V. T.; MIQUELONI, 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**, v. 20, p. e2015104, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.10415>.
- CULLEN, P. J.; TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; MUTHUKUMARAPPAN, K. Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 3-4, p. 125-136, Apr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.049>.
- DORNER, J. W. Management and prevention of mycotoxins in peanuts. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 25, n. 2, p. 203-208, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652030701658357>.
- EUROPEAN UNION. Commission Regulation (EU) n° 165/2010 of 26 February 2010 amending Regulation (EC) n° 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. **Official Journal of the European Union**, v. L50, p. 8-12, 2010.
- FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. **Drug Metabolism Reviews**, v. 42, n. 4, p. 612-620, Nov. 2010. DOI: <https://doi.org/10.3109/03602532.2010.484461>.
- FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Brazil nuts: benefits and risks associated with contamination by fungi and mycotoxins. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1434-1440, June 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.047>.
- FREITAS-SILVA, O.; MORALES-VALLE, H.; VENÂNCIO, A. Potential of aqueous ozone to control aflatoxigenic fungi in Brazil nuts. **ISRN Biotechnology**, 859830, July 2013. DOI: <https://doi.org/10.5402/2013/859830>.
- GIORDANO, B. N. E.; SIMAO, V.; MANFIO, D. Reduction of in shell Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) aflatoxin contamination by ozone gas application during storage, **Julius-Kühn-Archiv**, v. 425, p. 566-572, 2010. DOI: <https://doi.org/10.5073/jka.2010.425.167.231>.
- GONÇALVES, R. C.; LEITE, J. M.; REIS, F. S.; LIMA, M. M.; OLIVEIRA, E. B. Diversidade da microbiota de sementes de castanheira, *Bertholletia excelsa* Humbolt e Bomplier colhidas em sistemas extrativistas no Acre. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2006, Curitiba. **Anais** [...]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2006.
- GONÇALVES, R. C.; ÁLVARES, V. S.; CARTAXO, C. B. C.; WADT, L. H. O.; SOUZA, J. M. L.; DE LIMA, A. C. Secador estacionário a ar aquecido forçado artificialmente: inovação tecnológica na secagem de sementes de castanheira da Amazônia (*Bertholletia excelsa*). Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2010. 4 p. (Embrapa Acre. Comunicado técnico, 174). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/872684>. Acesso em: 15 jan. 2022.

GUZEL-SEYDİM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDİM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT-Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 153-160, June 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.10.014>.

ISMAIL, A.; GONÇALVES, B. L.; NEEFF, D. V.; PONZILACQUA, B.; COPPA, C. F.; HINTZSCHE, H.; SAJID, M.; CRUZ, A. G.; CORASSIN, C. H.; OLIVEIRA, C. A. F. Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination. **Food Research International**, v. 113, p. 74-85, Nov. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.067>.

JAGER, A.; TEDESCO, M. P.; SOUTO, P. C. M. de C.; OLIVEIRA, C. A. F. Assessment of aflatoxin intake in São Paulo, Brazil. **Food Control**, v. 33, n. 1, p. 87-92, Sept. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.02.016>.

LEITE, F. M. N.; SOUZA, M. L.; SOUZA, J. M. L.; CARTAXO, C. B. C.; ÁLVARES, V. S.; CUNHA, C. R. Incidence of *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* and aflatoxins in Brazil nuts in the Amazon Forest environment. **World Mycotoxin Journal**, v. 7, n. 2, p. 199-205, Mar. 2014. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2012.1488>.

KABAK, B. The fate of mycotoxins during thermal food processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 4, p. 549-554, Mar. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3491>.

MAGAN, N.; OLSEN, M. **Micotoxins in food: Detection and control**. Boca Raton: CRC Press: Woodhead Publishing, 2004, 488 p.

MANUAL de segurança e qualidade para a cultura da castanha-do-brasil. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: CampoPAS, 2004. 61 p. (Qualidade e segurança dos alimentos).

MARÍN, S.; RAMOS, A. J.; CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 218-37. Oct. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047>.

MARÍN, S.; RAMOS, A. J. Molds and mycotoxins in nuts. In: KOTZEKIDOU, P. (ed.). **Food hygiene and toxicology in ready-to-eat foods**. Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 2016. Cap. 17, p. 295-312. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801916-0.00017-0>.

MARKLINDER, I.; LINDBLAD, M.; GIDLUND, A.; OLSEN, M. Consumer's ability to discriminate aflatoxin contaminated Brazil nuts. **Food Additives & Contaminants**, v. 22, n. 2, p. 56-64, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652030400028043>.

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. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 45, 14, 2008, Rio Branco Ufac. **Anais** [...]. Rio Branco, AC: Ufac, 2008.

MIDORIKAWA, G. E. O.; SOUZA, M. L. M.; SILVA, O. F.; DIAS, J. S. A.; KANZAKI, L. I. B.; HANADA, R. E.; MESQUITA, R. M. L. C.; GONÇALVES, R. C.; ÁLVARES, V. S.; BITTENCOURT, D. M. C.; MILLER, R. N. G. Characterization of *Aspergillus* species on Brazil nut from the Brazilian Amazonian region and development of a PCR assay for identification at the genus level. **BMC Microbiology**, v. 14, n. 138, May 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-138>.

MYCOTOXINS: risks in plant, animal, and human systems. Ames, Iowa: Council for Agricultural Science and Technology, 2003. 199 p. (Task force report, 139)

O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J.; RICE, R. G. (ed.) **Ozone in food processing**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012. 312 p.

OURO VERDE AMAZÔNIA. **Caminho da castanha**. [2014]. Disponível em: <http://ouroverdeamazonia.com.br/curiosidades>. Acesso em: 22 maio 2020.

OLIVEIRA, C. A.; CORASSIN, C. H. Aflatoxins. In: DUARTE, S. C.; PENA, A. L. S.; LINO, C. de M. **Mycotoxins and their implications in food safety**. London, UK: Future Medicine, 2014. p. 6-19. DOI: <https://doi.org/10.4155/ebo.13.468>.

OLIVEIRA, J. M.; ALENCAR, E. R.; BLUM, L. E. B.; FERREIRA, W. F. S.; BOTELHO, S. C. C.; RACANICCI, A. M. C.; LEANDRO, E. S.; MENDONÇA, M.A.; MOSCON, E.S.; BIZERRA, L. V. A. S.; SILVA, C. R. 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**, v. 123, p. 106-109, Apr. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109106>.

PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. **Castanha-do-brasil**: da floresta tropical ao consumidor. Florianópolis: Editograf, 2006. 171 p.

PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the Amazon basin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, n. 26, p. 11087-11092, Dec. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf072434k>.

PANKAJ, S. K.; SHI, H.; KEVIN, M. K. A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 71, p. 73-78, Jan. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.007>.

PERAICA, M. Mycotoxicoses. In: VIEGAS, C.; PINHERO, A. C.; SABINO, R.; VIEGAS, S.; BRANDÃO, J.; VERISSIMO, C. (ed.). **Environmental mycology in public health: fungi and mycotoxins risk assessment and management**. Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 2016. Cap. 5, p. 45-49. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411471-5.00005-3>.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; LIMA, A. S.; MOREIRA, A. P. A. Occurrence of aflatoxin M1 in parmesan cheese consumed in Minas Gerais, Brazil. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 6, p. 1906-1911, dez. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000600033>.

RIBEIRO, M. S. S.; SILVA, O. F.; CASTRO, I. M.; TEIXEIRA, A.; SILVA, S. H. M.; MORAES, A. C. S. S.; ABREU, L. F.; SOUSA, C. L. Efficacy of sodium hypochlorite and peracetic acid against *Aspergillus nomius* in Brazil nuts. **Food Microbiology**, v. 90, 103449, Sept. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103449>.

REIS, T. A.; OLIVEIRA, T. D.; BAQUIÃO, A. C.; GONÇALVES, S. S.; ZORZETE, S. S.; CORREA, B. Mycobiota and mycotoxins in Brazil nut samples from different states of the Brazilian Amazon region. **International Journal of Food Microbiology**, v. 159, n. 2, p. 61-68, Oct. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.005>.

RUSTOM, I. Y. S. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. **Food Chemistry**, v. 59, n. 1, p. 57-67, May 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00096-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00096-9).

SAMARAJEWA, V.; SEN, A. C.; COHEN, M. D.; WEI, C. I. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 6, p. 489-501, June 1990. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028x-53.6.489>.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Trabalho e paciência**: entrevista realizada com a diretoria da COOPERACRE. Rio Branco, AC, 2007.

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**, v. 20, n. 4, p. 500-509, dez. 2013. DOI: <https://doi.org/10.4322/loram.2013.046>.

SCUSSEL, V. M.; GIORDANO, B. N.; SIMÃO, V.; MANFIO, D.; GALVÃO, S.; RODRIGUES, M. N. F. Effect of oxygen-reducing atmospheres on the safety of packaged shelled Brazil nuts during storage. **International Journal of Analytical Chemistry**, article ID 813591, July 2011. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/813591>.

TANIWAKI, M. H.; FRISVAD, J. C.; FERRANTI, L. S.; LOPES, A. S. L.; LARSEN, T. O.; FUNGARO, M. H. P.; IAMANAKA, B. T. Biodiversity of mycobiota throughout the Brazil nut supply chain: From rainforest to consumer. **Food Microbiology**, v. 61, p. 14-22, Feb. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.08.002>.

VARGA, J.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Two new aflatoxin producing species and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. In: SAMSON, R. A.; VARGA, J.; FRISVAD, J. C. **Taxonomic studies on the genus *Aspergillus***. Utrecht, Netherlands: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, 2011. p. 57-80. (Studies in micology, 69).

VEIGA, A.; LOPES, A.; CARRILHO, E.; SILVA, L.; DIAS, M. B.; SEABRA, M. J.; BORGES, M.; FERNANDES, N. S. **Perfil dos riscos dos alimentos consumidos em Portugal**. Lisboa: ASAE, 2009. 330 p. Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/noticias-/noticias-de-2012-e-anteriores/antecedentes-a-2012/perfil-de-risco-dos-principais-alimentos-consumidos-em-portugal.aspx>. Acesso em: 15 jun. 2022.

YU, J. Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. **Toxins**, v. 4, n. 11, p. 1024-1057, Nov. 2012. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins4111024>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Micotoxins**. Rome, Italy, 1979. p. 21-84. (Environmental health criteria, 11).