

**TÉCNICAS DE DESCONTAMINAÇÃO DE CASTANHAS-DO-BRASIL
INTENCIONALMENTE CONTAMINADAS COM *Aspergillus nomius***

**TECHNIQUES OF DECONTAMINATION OF BRAZIL NUTS INTENTIONALLY
CONTAMINATED WITH *Aspergillus nomius***

Maria do Socorro Souza Ribeiro¹, Bruno Silva Cunha^{2*}, Laura Figueiredo Abreu³, Otniel Freitas Silva³, Consuelo Lúcia Sousa de Lima¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos-PPGCTA, Instituto de Tecnologia-ITEC, Universidade Federal do Pará.

²Faculdade de Engenharia de alimentos, Instituto de Tecnologia-ITEC, Universidade Federal do Pará.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

*E-mail: bscufpa@gmail.com

Resumo

A castanha-do-brasil é uma matéria-prima de origem amazônica, conhecida por seus benefícios nutricionais. Entretanto, por conta da produção extrativista este produto está susceptível a vários focos de contaminação durante a cadeia produtiva. Este trabalho teve como objetivos a avaliação de diferentes métodos de descontaminação para controle de *Aspergillus nomius* produtor de aflatoxinas em castanha-do-brasil. As amostras de castanhas foram inoculadas com suspensão de *A. nomius* e posteriormente, foram testadas as técnicas de secagem em estufa a 60°C por 8 horas, esterilização em cabine UV por 20 minutos e sanitização com hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos. Todos os tratamentos tiveram ação sob a cepa, sendo obtidos reduções de 3,18; 1,66 e 1,04 RD, respectivamente. A secagem mostrou-se o melhor tratamento de descontaminação, no entanto, mais pesquisas com outros métodos de descontaminação em castanhas são necessárias para controle da contaminação fúngica.

Palavras-chave contaminação, fungos, castanha-do-brasil.

Introdução

A castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K) é uma matéria-prima de origem amazônica, conhecida mundialmente por seus benefícios nutricionais. Entretanto, por conta da produção extrativista e processamento simples, as castanhas estão susceptíveis a vários focos de contaminação durante toda a cadeia produtiva (PAS 2004; MASSI et al., 2014).

Entre os micro-organismos contaminantes das castanhas, os fungos são um grupo que merece destaque, devido a recorrente incidência de espécies de *Aspergillus* seção *Flavi*, com destaque para o *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nomius* e *Aspergillus parasiticus* que em condições de elevada temperatura e umidade são potenciais produtores de aflatoxinas, que são compostos extremamente tóxicos e cancerígenos (BAQUIÃO, 2012; CARJAVAL, 2013).

O armazenamento inadequado das castanhas tanto no campo quanto na indústria é a principal causa da sua elevada contaminação (BAQUIÃO, 2012). Os elevados índices de aflatoxinas em castanhas-do-brasil têm prejudicado as exportações deste produto, o que torna necessária a utilização de medidas que assegurem a sua qualidade. Estratégias para controle das aflatoxinas em castanhas-do-brasil estão relacionadas ao controle dos fungos produtores, visto que, um vez produzidas, as aflatoxinas dificilmente serão eliminadas em condições normais de processo (PAS, 2004, TANIWAKI 2016).

Desta forma, o desenvolvimento de técnicas de descontaminação das castanhas-do-brasil, visando a redução dos fungos produtores de aflatoxinas constitui-se uma medida que pode contribuir positivamente para a redução da contaminação das aflatoxinas. Este

Trabalhos Apresentados

trabalho teve como objetivos a avaliação de diferentes métodos de descontaminação para controle de *Aspergillus nomius* produtor de aflatoxinas em amostras de castanha-do-brasil.

Material e Métodos

Amostras

As amostras de castanhas-do-brasil foram provenientes do município de Tomé-açu-PA. Foram utilizadas 8 amostras de castanhas-do-brasil inteiras e com cascas. As amostras foram lavadas para retiradas de sujidades, colocadas individualmente, em frascos de vidro previamente esterilizados, e posteriormente a contaminação microbiológica natural das amostras foi removida, por descontaminação em autoclave a 121°C por 20 minutos (FREITAS-SILVA et al., 2013).

Cepa *Aspergillus nomius*

A cepa de *Aspergillus nomius* produtora das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 foi isolada de amostras de castanha-do-brasil e cedida pelo Laboratório de Resíduos e Contaminantes da Embrapa Agroindústria de Alimentos-RJ.

Preparo da suspensão de conídios de *Aspergillus nomius*

A cepa de *Aspergillus nomius* foi cultivada em tubos inclinados com meio Ágar Sabouraud e incubados por 7 dias a 27°C. O inóculo foi preparado pela adição de 7 ml de peptona salina estéril com *tween 80* 0,01%. Em seguida o conteúdo foi transferido para um tubo *falcon*, e a suspensão foi ajustada a uma concentração de 10⁸ conídios utilizando densitômetro (Densichek plus Instrument bioMeriux-SA) (FREITAS-SILVA, 2013).

Inoculação das castanhas-do-brasil

Para cada frasco composto por uma castanha previamente esterilizada, foram adicionados em 10 pontos diferentes da superfície da castanha 0,1 mL da suspensão de conídios com concentração de 10⁸(SALOMÃO, 2009). Em seguida, os frascos permaneceram na câmara de fluxo por 5 dias, para que houvesse a fixação dos conídios.

Tratamentos das castanhas

Foram aplicadas três técnicas para descontaminação das castanhas: Secagem em estufa a 60°C por 8 horas, Esterilização em cabine de fluxo UV 365 nm por 20 minutos e sanitização através da lavagem com hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos. Todos os testes foram realizados em duplicata. Após os períodos descritos, foram adicionados 40 mL de água com *tween* 0,01% aos frascos com castanhas, posteriormente, realizou-se a agitação por 30 segundos, seguida da inoculação de 0,1 mL da solução de lavagem em DRBC (Dicloran Rosa Bengala Clorafenicol), incubado em DBO a 25°C por 5 dias.

Como tratamento controle, para avaliar a adesão de conídios nas castanhas, após 5 dias, dois frascos com castanhas artificialmente contaminadas, foram lavados com água com *tween 80* 0,01%, as castanhas permaneceram imersas na solução por 15 minutos, em seguida foram, agitadas por 30 segundos, e então foi realizado o plaqueamento de 0,1 mL da água de lavagem em meio DRBC incubado em DBO a 25°C por 5 dias. Para a avaliação do efeito dos tratamentos foi realizado o cálculo de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Equação 1: RD} = \text{Log} \left(\frac{N_0}{N} \right)$$

Em que:

RD: Número de reduções decimais

No: Concentração da população inicial de células (UFC/mL)-Tratamento controle

N: Concentração de sobreviventes após o tratamento aplicado (UFC/ mL)

Resultados e Discussão

Os resultados de número de reduções decimais (RD) obtidos após os tratamentos de descontaminação de amostras de castanhas-do-brasil, estão apresentados na Figura 1.

Trabalhos Apresentados

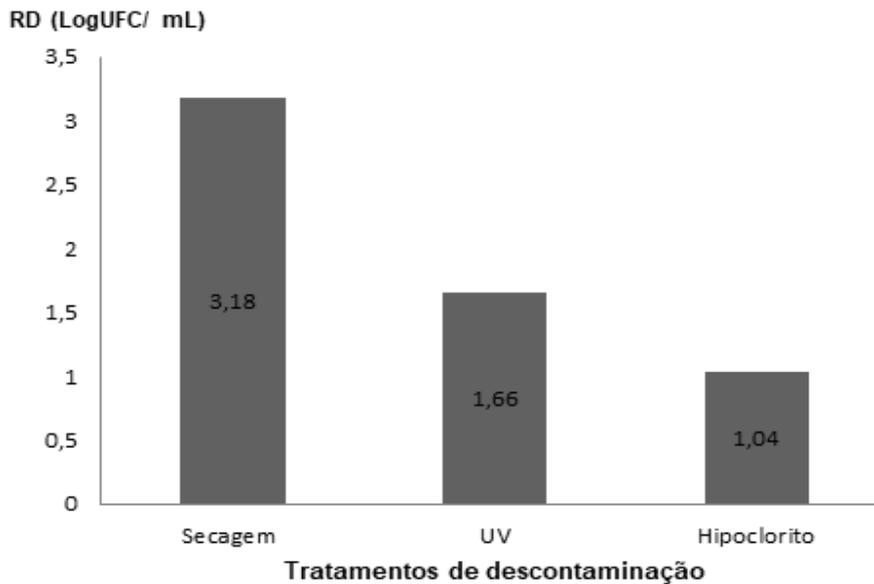


Figura 1. Resultados dos tratamentos de descontaminação aplicados nas superfícies de castanhas-do-brasil.

Os números de reduções (RD) foram calculados em relação a contagem de esporos iniciais, obtida através da lavagem das castanhas em água com *tween80* a 0,01%, a fixação de conídios na castanha foi de 8,17 log UFC/ mL. De forma geral, pode-se observar que todos os tratamentos tiveram ação sob a cepa de *Aspergillus nomius* testada.

A secagem a 60°C das castanhas, mostrou-se o tratamento mais eficiente para redução de *A. nomius*, apresentando uma redução superior a 3 logs. Este resultado é relevante, uma vez que, na indústria o tratamento empregado para a redução da proliferação fúngica e conseqüentemente, o controle da contaminação por aflatoxinas é a secagem em estufa com circulação de ar (PACHECO e SCUSSEL, 2007).

Com relação ao tratamento com UV, a redução não alcançou a 2 logs. Esta baixa redução, talvez possa ser explicada pelo curto período de exposição das castanhas (20 minutos) a radiação. O tratamento com radiação UV embora não seja empregado no processamento de castanhas, já é utilizado no processamento de outros alimentos (BARTNICKI et al 2010). Entretanto, a limitação principal desta técnica, é o baixo grau de penetração, que pode impedir a ação de forma uniforme na carga microbiana existente no alimento (MARQUIS; BALDECK, 2007).

A descontaminação da superfície de castanhas com hipoclorito de sódio a 200 ppm, foi o tratamento menos eficaz para controle de *A. nomius*, com redução de apenas 1 log. os resultados obtidos neste estudo, encontraram-se abaixo dos resultados apresentados por Santos (2012) que avaliando maçãs artificialmente contaminadas com *penicillium* obtiveram até 2 logs de redução, como justificativa, pode-se citar as diferentes resistências dos fungos a um determinado agente químico. Embora o hipoclorito de sódio seja o sanitizante mais utilizado em alimentos, nos últimos anos, muitas pesquisas vêm estudando novos sanitizantes que possam substituí-lo, principalmente devido a formação de resíduos tóxicos produzidas na decomposição dos compostos clorados (HAHN, et al., 2014).

Conclusão

As técnicas empregadas foram eficientes para descontaminação superficial das castanhas contaminadas artificialmente com a cepa de *A. nomius* aflatoxigênica. A secagem apresentou melhores resultados, tendo em vista a maior redução obtida. No entanto, mais pesquisas com a aplicação de tratamentos UV e hipoclorito de sódio em condições ideais, além de outros métodos de descontaminação em castanhas-do-brasil, são necessários para que sejam obtidas maiores reduções da contaminação fúngica nesta matéria-prima.

Trabalhos Apresentados

Referências Bibliográficas

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**, 76(8), 1414–1420, 2012.

BARTNICKI, A. V.; VALDEBENITO-SANHUEZA, M. R.; AMARANTE, T. V. C., CASTRO, S. A. L.; RIZZATTI, R. M.; SOUZA, V. A. J.; *Pesq. Agropec. Bras.* 45, 124, 2010.

CARVAJAL. M. Transformación de la aflatoxina b1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1 -ADND.R. **Rev. Especializada en Ciências Químico-Biológicas**, Universidad Nacional Autónoma de México v. 16 (2), p. 109-120, 2013.

FREITAS-SILVA, O.; MORALES-VALLE, H.; VENÂNCIO, A. Potential of Aqueous Ozone to Control Aflatoxigenic Fungi in Brazil Nuts. Ver. **Hindawi Publishing Corporation ISRN Biotechnology**, V. 2013, p. 1-6, 2013.

HAHN, K; WEBER, J.A; BLEACH, IN: P. WEXLER (Ed.) **Encyclopedia of Toxicology, Academic Press**, Oxford, p. 519-521. 2014.

MASSI, F.P; VIEIRA, M. L. C; SARTORI, D; PENHA, R.E.S; MUNHOZ, C.F; FERREIRA, J.M; IAMANAKA, B,T; TANIWAKI, M.H; FRISVAD, J.C; FUNGARO, M.L.P Brazil nuts are subject to infection with B and G aflatoxin producing fungus *Aspergillus*. **International Journal of Food Microbiology**. v 186, p. 14-21, 2014.

MARQUIS, R.E.E.; BALDECK, J.D. Sporicidal interactions of ultraviolet irradiation and hydrogen peroxide related to aseptic technology. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, n. 6, p. 547-553, 2007.

PACHECO, A. M; SCUSSEL, V. M. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the Amazon basin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 55, p. 11087-11092, 2007.

PAS. Programa alimentos Seguros. Safety **Manual for the quality of the Brazil nut**. Brasília, DF: Campo PaS, 62 pp. (Série Qualidade e Segurança dos alimentos). (in Portuguese), 2004.

SALOMÃO, B.C.M.; ARAGÃO, G.M.F.; CHUREY, J.J.; WOROBO, R.W.; Efficacy of Sanitizing Treatments against *Penicillium expansum* Inoculated on Six Varieties of Apples. **Journal of Food Protection**, Vol. 71, pg 643-647, No. 3, 2009.

SANTOS, H.S.; MURATORI, M.C.S.; MARQUES, A.L.A.; ALVES, V.C.; FILHO, F.C.C.; COSTA, A.P.R.; PEREIRA, M.M.G.; ROSA, C.A.R.; Evaluation of the efficacy of sodium hypochlorite in sanitization of lettuce (*Lactuca sativa*). *Rev Inst Adolfo Lutz*, 71(1):56-60, 2012.

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, 2016.

Bruno Silva Cunha, Universidade Federal do Pará- Email: bscufpa@gmail.com