



PESQUISA DE *Salmonella* EM PRODUTOS À BASE DE AMENDOIM

Ana Paula da Silva **Tenório**¹; Dennis Henrique Leandro da **Silva**²; Maristela da Silva do **Nascimento**³; Valéria Christina Amstalden **Junqueira**⁴

Nº 15239

RESUMO - A salmonelose é uma das principais gastroenterites veiculadas por alimentos no mundo. Estudos apontam que a *Salmonella* é capaz de sobreviver a diversos ambientes hostis, inclusive em alimentos com baixa atividade de água como o amendoim. Sendo uma semente muito produzida, comercializada e consumida no mundo, justifica-se uma investigação da presença de *Salmonella* em alimentos desse gênero fabricados no Brasil. Este trabalho objetivou a investigação da sobrevivência de *Salmonella* durante a estocagem de produtos de amendoim com baixa atividade de água. Foram adquiridos dois produtos, pé de moleque (amostra A) e pé de moça (amostra B), essas amostras foram inoculadas à 6 log UFC/g e incubadas a 26-28°C. A sobrevivência de *Salmonella* foi avaliada pela contagem de colônias em ágar XLD e confirmada através do equipamento Mini-vidas, também foram determinadas as atividades de água (aw) das amostras. A amostra A, com aw de 0,30 em média, apresentou *Salmonella* durante os 240 dias dos experimentos, enquanto na amostra B, com aw de 0,70 foi observada a presença de *Salmonella* apenas nas primeiras duas semanas, obtendo declínio significativo na contagem de células após o 15º dia. Conclui-se que a sobrevivência de *Salmonella* foi influenciada pela atividade de água da amostra, sendo maior para aw de 0,30 quando comparado a de 0,70.

Palavras-chaves: *Salmonella*, amendoim, atividade de água, segurança alimentar.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biomédicas, METROCAMP, Campinas-SP; paulaa.tenorio@gmail.com

2 Colaborador, Graduação em Ciências Biomédicas, METROCAMP, Campinas-SP, dennis.leandro@yahoo.com.br

3 Colaborador, Professora da Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, mnasci@unicamp.br

4 Orientador: Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP, vcaj@ital.sp.gov.br



ABSTRACT- *The salmonellosis is one of the main gastroenteritis conducted by food in the world. Studies suggest that the Salmonella is capable of surviving to several hostile environments, including low water activity noshes as peanut. Being a very produced seed, commercialized and consumed in the world, justifies an investigation of the presence of Salmonella in foods of this genus factored in Brazil. This work aimed the investigation of the surviving of Salmonella during the storing of the peanut products with low-water activity. Two products were acquired, Chikki (sample A) and Girl Standing (sample B), these samples were inoculated to 6 log CFU/g and incubated at 26-28°C. The survival of the Salmonella was evaluated by the counting of colonies in agar XLD and confirmed through the Mini-vidas equipment, the water activities (aw) of the samples were determined as well. The sample A, with aw of 0,30 on average, presented Salmonella during the 240 days of the experiments, while the sample B, with aw 0,70 was observed the presence of Salmonella just in the two first weeks, getting significant decline in the counting of cells after the 15th day. It concludes that the survival of Salmonella was influenced by the water activity in the sample, being bigger for aw 0,30 when compared to 0,70.*

Key-words: *Salmonella*, peanut, water activity, food safety.

1. INTRODUÇÃO

O amendoim é uma das sementes mais consumidas e produzidas no Brasil. Pode ser consumido in natura ou como produto industrializado associado à produção de doces, muito conhecidos pela população como a paçoca, pé de moleque e pé de moça. Rico em proteínas (de 25% a 28%) e lipídios (50% a 55%), é uma importante fonte de energia e nutrição trazendo benefícios à saúde como transporte e absorção de proteínas, renovação celular, proteção de veias e artérias, fortalecimento dos ossos e músculos, redução dos níveis de triglicérides no sangue, e redução da pressão arterial. ⁽¹⁻³⁾

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados (ABICAB), o Brasil é o terceiro maior produtor de amendoim das Américas, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Argentina. De acordo com o IBGE, de 2014 a 2016 espera-se um aumento da produção do amendoim com casca em 14,8 %. ⁽⁵⁾

O Brasil possui plenas condições naturais (clima e solo) para produzir amendoim de boa qualidade, por isso pode ser encontrado em diversas regiões como o sudeste, que concentra 80%



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

da produção nacional. Estima-se que o país possua 90 mil hectares de amendoim plantado em cultivos tecnológicos e familiares espalhados em solo brasileiro. ⁽²⁻⁴⁾

A umidade do amendoim deve ser $\leq 8\%$ para o amendoim cru descascado e para o amendoim cru com casca $\leq 11\%$. Valores mais elevados da umidade da semente a deixam susceptível a lesões térmicas durante a secagem e principalmente a microrganismos, em sua maioria fungos como *Aspergillus* e *Penicillium*. ⁽⁶⁻⁷⁾

A *Salmonella* é muito encontrada em produtos com atividade de água elevada como carnes, ovos e frutas, porém os surtos envolvendo *Salmonella* em produtos a base de amendoim tem chamado atenção nos últimos anos, como em 2012. Um surto relatado nos Estados Unidos que acometeu cerca de 42 pessoas em 20 estados, sendo a maioria crianças menores de 10 anos. Foi encontrada *Salmonella* em quatro amostras de produtos industriais processados e em uma amostra de amendoim cru sem casca. ⁽⁸⁾

O amendoim possui duas características que colaboram para a sobrevivência da *Salmonella*: Alto teor de gordura, que coopera para que a *Salmonella* tenha proteção contra o ácido gástrico colaborando para a colonização do intestino e manifestação dos sintomas, e a baixa atividade de água que aumenta a resistência térmica do produto. ⁽⁹⁾ Alimentos com essas características e que principalmente apresentam surtos de doenças requerem atenção e estudos para melhoria nos métodos preventivos nas etapas de produção. O presente estudo teve como objetivo determinar a sobrevivência de *Salmonella* durante estocagem de produtos de amendoim com diferentes atividades de água.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas através de dois experimentos, duas amostras de produtos comerciais à base de amendoim: Pé de moleque (A), com atividade de água em torno de 0,30 e Pé de moça (B) com atividade de água em torno de 0,70.

Cada amostra foi inoculada na ordem de 6 log UFC/g, e após a inoculação foram armazenadas em estufa BOD com temperatura entre 26-28°C.

Foram coletadas porções de 10g das amostras que passaram por homogeneização com caldo de pré-enriquecimento (BPW) na diluição 1:10 (10g em 90ml). Após a homogeneização, as amostras permaneceram uma hora em repouso para a etapa de desinjuriamento. Foram realizadas diluições decimais e plaqueamento em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), as placas foram incubadas invertidas a 37°C/24-28h e os resultados obtidos foram expressos em unidade formadora de colônia por grama (UFC/g) de acordo com o limite de detecção (1 log UFC/g).



Para amostras de presença ou ausência, após a etapa de desinjuriamento, acrescentou-se 180 µl do suplemento Verde Brilhante (VB) e incubou-se a 41,5°C/20-24h.

Após a incubação, 500 µl foram coletados de cada amostra e depositados nos barretes do kit Vidas *Salmonella* (SPT) os quais foram aquecidos por 5 minutos a 131°C, resfriados em temperatura ambiente por 10 minutos e inseridos no equipamento Mini-Vidas. Após a análise no equipamento o resultado foi expresso em presença ou ausência de *Salmonella* em 10g.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi detectada presença de *Salmonella* na amostra A (aw 0,30) durante os 240 dias nos dois experimentos realizados, enquanto a amostra B (aw 0,70) apresentou expressiva redução da população bacteriana a partir do 15º dia de estocagem.

Tabela 1. Sobrevivência de *Salmonella* em amostras de amendoim artificialmente inoculadas e estocadas a 26-28°C por até 240 dias (Experimento 1).

Tempo (Dias)	Amostra A		Amostra B	
	Log (UFC/g)*	aw**	Log (UFC/g)	aw
0	5,87	0,28	6,27	0,69
15	5,16	0,32	1,00	0,70
21	3,83	0,34	<1***	0,70
34	3,47	0,3	<0***	0,70
45	1,35	0,36	<0***	0,69
60	2,54	0,3	<0***	0,64
90	2,15	0,33	<0***	0,65
120	<1***	0,34	<0***	0,70
150	0,98	0,35	<0***	0,74
180	1,35	0,35	<0***	0,71
210	<0***	0,33	<0***	0,68
240	0,85	0,33	<0***	0,69

* Logaritmo de unidades formadoras de colônia por grama

** Atividade de água.

*** Amostras submetidas ao Mini-Vidas



Tais resultados coincidem com diversas pesquisas anteriores¹⁴ como a de NUMMER et al (2012), que após misturar manteiga de amendoim inoculada artificialmente com *Salmonella* a uma pasta de Fondant (cobertura para bolos a_w 0,65 a 0,69) e armazená-la à temperatura ambiente, observou uma redução de 5 log UFC/g em apenas 5 semanas de análise, também foi possível detectar a presença do patógeno até 12 meses após o início da pesquisa.¹² Semelhantemente amostras de proteína em pó inoculadas com *Salmonella* armazenadas à 21°C com a_w de 0,52, foram menos resistentes do que em amostras com $a_w < 0,33$.¹³

Tabela 2. Sobrevivência de *Salmonella* em amostras de amendoim artificialmente inoculadas e estocadas a 26-28°C por até 240 dias (Experimento 2).

Tempo(Dias)	Amostra A		Amostra B	
	Log(UFC/g)*	a_w **	Log(UFC/g)	a_w
0	6,46	0,31	6,61	0,70
07	5,86	0,3	5,06	0,71
15	4,95	0,28	3,12	0,71
21	3,98	0,3	1,45	0,72
34	3,96	0,3	1,15	0,71
45	3,11	0,31	0,63	0,70
60	3,36	0,33	<0***	0,69
90	2,12	0,31	<0***	0,70
120	2,87	0,31	<1***	0,69
150	1,52	0,32	<1***	0,70
180	1,41	0,34	<1***	0,71
210	1,27	0,37	<1***	0,71
240	0,90	0,33	<1***	0,71

* Logaritmo de unidades formadoras de colônia por grama

** atividade de água

*** Amostras submetidas ao Mini-Vidas

Para o crescimento de *Salmonella*, o valor mínimo de atividade de água deve ser 0,94 e o valor ótimo 0,99. Valores de atividade de água menores que 0,94 não viabilizam o crescimento do patógeno, mas possibilitam a sobrevivência do microorganismo por muitos meses.¹⁰ Esta informação pode ser reforçada com os achados do presente estudo, que detectou *Salmonella* em amostra com atividade de água de até 0,28 (Tabela 2).



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

Tais resultados também são compatíveis com estudos que demonstraram a viabilidade da *Salmonella* por longos períodos em alimentos com características semelhantes as do amendoim, baixa atividade de água e alto teor de gordura. ¹¹

O equipamento Mini-vidas foi utilizado quando a contagem tradicional foi equivalente a zero devido a sua capacidade de detecção em concentrações muito baixas (0,25) em 10g de amostra. Todas as 19 amostras submetidas ao Mini-vidas apresentaram presença de *Salmonella*.

4. CONCLUSÃO

A sobrevivência de *Salmonella* foi influenciada pela atividade de água das amostras, sendo maior para atividade de água de 0,30 quando comparado a de 0,70.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq – PIBIC, pela bolsa concedida, ao Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos – ITAL, pela oportunidade de estágio, à pesquisadora Valéria Junqueira pela orientação e dedicação, à professora Maristela Nascimento pela confiança e ao colaborador Dennis Leandro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABICAB – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CHOCOLATES, CACAU, AMENDOIM, BALAS E DERIVADOS. **Amendoim e seus benefícios**. Disponível em <http://www.abicab.org.br/amendoim/o-amendoim-e-seus-beneficios/> acesso em 21/01/15.
2. CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2013. **Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos**. Disponível em <http://www.conab.gov.br>, acesso em 24/01/2015.
3. INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS. **Manejo de plantas daninhas na cultura do amendoim**- Boletim Técnico IAC, Campinas, n. 207, 2011- Disponível em http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/porassunto/pdf/boletim_amendoim.pdf acesso em 24/01/2015
4. SABES, J.J.S., ALVES, A.F. **Aspectos do agronegócio do amendoim no Brasil**. Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar 2007- Disponível em http://www.unicesumar.edu.br/prppge/pesquisa/epcc2007/anais/jair_junior_sanches_sabes1.pdf acesso em 22/01/2015.



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

5. Portal do agronegócio, **IBGE: produção agrícola crescerá no ano em 16 produtos pesquisados**- Disponível em <http://www.portaldoagronegocio.com.br/noticia/ibge-producao-agricola-crescera-no-ano-em-16-produtos-pesquisados-121249> acesso em 28/01/15
6. Amendoim : o produtor pergunta, a Embrapa responde. **Embrapa Informação Tecnológica**, 2009. Brasília,DF.
7. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 172**, de 04 de julho de 2003- Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/503f2c00474579428651d63fbc4c6735/RDC_17_2_2003.pdf?MOD=AJPERES- acesso em 28/01/2015.
8. CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2012b. **Multistate Outbreak of Salmonella Braenderup Infections Associated with Mangoes (Final Update)**. Disponível em <http://www.cdc.gov/salmonella/bredeney-09-12/index.html> acesso em 18/01/2015.
9. D'Aoust, J.Y. Salmonella and the chocolate industry. A review. **Journal of Food Protection** 40, 718-727, 1977.
10. **Beuchat**, L.R. Behavior of Salmonella in Foods with Low Water Activity, 2009. Disponível em: http://www.foodprotection.org/files/rr_presentations/RR_06.pdf acesso em 11/06/2015.
11. BURNETT, S.L. GEHM, E.R., WEISSINGER, W.R., BEUCHAT, L.R. Survival of Salmonella in Peanut Butter and Peanut Butter Spread. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, Issue 3, pg. 472-477, 2000.
12. **Nummer**, B. A., S. Shrestha, and J. V. Smith. 2012. Survival of Salmonella in a high-sugar, low-water activity, peanut butter flavored candy fondant. *Food Control* 27:184–187.
13. Farakos,S.M, Frank,J.F, Schaffner,D.W. Modeling the influence of temperature, water activity and water mobility on the persistence of Salmonella in low-moisture foods. **International Journal of Food Microbiology**, v.166, 2013,pg. 280-293.
14. AI KATAOKA et al. Survival of Salmonella Tennessee, Salmonella Typhimurium DT104, and Enterococcus faecium in Peanut Paste Formulations at Two Different Levels of Water Activity and Fat, **Journal of Food Protection**, Vol. 77, No. 8, 2014, Pg 1252–1259