



PESQUISA DE *SALMONELLA* NA CADEIA PRODUTIVA DE AMENDOIM

Dennis Henrique Leandro da **Silva**¹; Izabel Cristina da Rocha Leão Crivelli Nunes da **Silva**²;
Angélica Olivier **Bernardi**³; Neusely da **Silva**⁴; Maristela da Silva do **Nascimento**⁵

Nº 14234

RESUMO - *Salmonella*, uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, é um importante patógeno transmitido por alimentos com distribuição global. Recentemente, no cenário mundial, tem-se observado surtos de salmonelose relacionados ao consumo de produtos à base de amendoim. Porém, não há informações na literatura sobre a contaminação de *Salmonella* durante as etapas de pós-colheita e beneficiamento deste produto. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de *Salmonella* ao longo da cadeia produtiva do amendoim. Foram analisadas 60 amostras de diferentes etapas provenientes de 3 produtores e 3 beneficiadores do Estado de São Paulo (arranquio, enleiramento, despencamento, secagem, debulhamento, seleção e blanchamento). A determinação de *Salmonella* foi realizada pela técnica molecular de PCR Real-Time e pelo método de imunoensaio do sistema Mini-Vidas em 250g de amostra (10 porções de 25g). Foi detectada *Salmonella* em 4 amostras (6,67%), sendo uma da etapa de arranquio, uma da etapa de despencamento e duas da etapa de secagem. O presente estudo demonstrou que o amendoim pode ser contaminado por *Salmonella* durante as etapas de pós-colheita e beneficiamento, podendo assim, comprometer a segurança do produto final.

Palavras-chaves: *Salmonella*; amendoim; segurança alimentar; produto de baixa atividade de água.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Estagiário do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; dennisleandro@live.com

2 Colaborador: Estagiária do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; belcrivelli@gmail.com

3 Colaborador, Mestranda da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS; angelica_bernardi@hotmail.com

4 Colaborador, Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; neusely@ital.sp.gov.br.

5 Orientador: Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; mnascimento@ital.sp.gov.br.



ABSTRACT- *Salmonella*, a bacterium of the *Enterobacteriaceae* family, is responsible for most cases of foodborne disease outbreaks worldwide. Recently, cases of salmonellosis resulting from peanut based product consumption have been observed. However, little is known about the behavior of *Salmonella* throughout the peanut production chain. Therefore, the aim of this study was to investigate the presence of *Salmonella* in peanut pre-processing and processing stages. Sixty samples from three producers and three processors of São Paulo State (either pulled-off, sun dried, picked, artificial dried, shucked, selected and blanched) were analyzed. *Salmonella* was determined by a PCR Real-Time method and by the Mini Vidas immunoassay method. *Salmonella* was detected in four analyzed samples (6.67%), one from the pull-off, one from the picked and two from the artificial drying step. The current study demonstrated that peanuts can be contaminated by *Salmonella* during the post-harvest and processing stages, which may compromise the safety of the final product.

Key-words: *Salmonella*; peanut; food safety; lower water activity product.

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do amendoim abrange três grandes etapas, produção agrícola, beneficiamento, industrialização e comercialização. Os processos de colheita e pós-colheita compreendem as operações de arranquio, enleiramento, secagem, despencamento das vagens, pré-limpeza e ensacamento. Estas etapas podem ser executadas manual ou mecanicamente. Após o arranquio, as plantas são levantadas e sacudidas para retirada do excesso de terra aderida as vagens. A seguir as mesmas são enfileiradas (enleiradas) e deixadas ao sol para secagem natural por 3 a 10 dias, dependendo das condições climáticas (EPA, 1995). Com a finalização da secagem ocorre o despencamento, ou seja, desprendimento das vagens das raízes da planta e a peneiragem para remoção de sujidades. O manejo no campo é finalizado com o ensacamento das vagens e envio a indústrias beneficiadoras.

Nas indústrias beneficiadoras o amendoim com casca pode ser comercializado após etapa de pré-limpeza e secagem artificial. Para a comercialização dos grãos são realizadas as operações de descascamento/debulhamento, seleção/classificação, blanchamento, torração e envase. O blanchamento, etapa de retirada da película que recobre o grão, pode ser realizado em



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

associação a torração ou em etapa posterior por processo a seco, utilizando jatos de ar ou rotação em tambor, ou eventualmente por processo úmido (EPA, 1995).

A qualidade sanitária do amendoim pode comprometer a saúde dos consumidores, através da veiculação de patógenos e toxinas. A ação dos agentes biológicos pode ocorrer, praticamente, em todas as etapas da cadeia produtiva do amendoim. Durante a pré-colheita, fatores como a contaminação do solo, uso de esterco ou composto não curtido de forma adequada e uso de água contaminada na irrigação são algumas fontes importantes de contaminação da cultura. Durante a pós-colheita, a higiene inadequada de manipulação e dos equipamentos e utensílios seriam fontes adicionais de contaminação. Já no beneficiamento, devido à baixa atividade de água do produto, o processo térmico ao qual o amendoim é submetido poderia não eliminar uma eventual contaminação ocorrida nas etapas anteriores. Além disso, pode ocorrer contaminação pós-processo, resultante de falhas em programas de controle de qualidade. Durante a industrialização, as possíveis fontes de contaminação dos produtos são matéria-prima, ingrediente, ambiente de processo e manipuladores. A possibilidade de contaminação cruzada, entretanto, não é desprezível, podendo ser provocada pelo ar, poeira, equipamentos e trânsito de pessoal (ICMSF, 2011).

De acordo com Sheth et al (2011), entre Agosto de 2006 e Julho de 2007, foram reportados 715 casos de salmonelose causados pelo consumo de pasta de amendoim nos Estados Unidos. Em 2012 também nos Estados Unidos, ocorreram 42 casos ocasionados por pasta de amendoim contaminada com *Salmonella* Bredeney (CDC, 2013).

O levantamento epidemiológico de surtos de salmonelose envolvendo produtos de baixa atividade de água confirma que a dose infectante é extremamente baixa, chegando a 0,04NMP/g (Lehmacher et al, 1995, Weber et al, 2005). Esta dose está associada à alta porcentagem de gordura, a qual confere proteção contra o ácido gástrico, permitindo a colonização do intestino e a produção de sinais clínicos (D'Aoust, 1977). Além disso, o alto teor de gordura associado à baixa atividade de água presente nestes produtos podem influenciar consideravelmente o aumento da resistência térmica da *Salmonella* (ICMSF, 2011). Ma et al (2009) verificaram a presença de *Salmonella* artificialmente inoculada em manteiga de amendoim, mesmo após tratamento térmico a 90 °C por 30min.

O controle da matéria-prima é considerado essencial na prevenção de *Salmonella*. Ainda assim, há uma enorme lacuna nas informações disponíveis sobre a contaminação dos ingredientes primários. Segundo Doyle & Buchanan (2013) não há dados publicados sobre avaliação de risco para as práticas de cultivos, colheita e secagem de castanhas, nozes e amendoim. Para a adoção



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

de qualquer medida preventiva, são necessários estudos que permitam determinar a prevalência e os pontos de entrada desse microrganismo na cadeia produtiva do amendoim. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de *Salmonella* nas etapas de pós-colheita e beneficiamento do amendoim.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAGEM

As amostras foram coletadas de três produtores e três beneficiadores do Estado de São Paulo, sendo: 10 amostras de arranquio, 10 de enleiramento, 10 de despencamento, 10 de secagem, 5 de debulhamento, 10 de seleção e 5 de blanchamento, totalizando 60 amostras.

2.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada em 250g de amostra (10 porções de 25 g) pela técnica molecular de reação em cadeia da polimerase (PCR-RT) real-time de acordo com o protocolo descrito pela Life Technology e também pelo método de imunoensaio utilizando o sistema Mini-Vidas da Biomérieux. Para a detecção por PCR real-time foi utilizada, para o pré-enriquecimento das amostras, Água Peptonada Tamponada (BPW), com incubação a 37 °C/18-24h. Após o período de incubação, foi realizada a etapa de extração de DNA utilizando o kit Prepman (Life Technology). Após a extração, uma alíquota de 30 µL da amostra foi transferida para o kit Microseq *Salmonella* (Life Technology). A reação de PCR foi realizada no equipamento Step One Plus (Life Technology). O resultado foi expresso como presença de *Salmonella* para Ct <38. Para o método de imunoensaio, o pré-enriquecimento foi realizado em BPW, suplementado com suplemento seletivo da Biomérieux, com incubação a 41,5 °C/20-24h. Após incubação, foi realizada compostagem das 10 porções de cada amostra analisada através da transferência de 1 ml de cada porção para um tubo estéril com posterior homogenização. Em seguida, foram transferidos 500µl de cada compostagem para barretes do kit Vidas UP *Salmonella* (SPT), os quais foram aquecidos por 5 minutos a 131°C, resfriados à temperatura ambiente por 10 minutos e inseridos no equipamento Mini-Vidas (BioMérieux, França). Após a análise no equipamento, o resultado foi expresso em ausência ou presença de *Salmonella* em 250g. As amostras que apresentaram resultado positivo foram submetidas a confirmação pelo método cultural (Andrews et al., 2014).



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados da análise de *Salmonella* das etapas de pós-colheita do amendoim, provenientes de 3 produtores do Estado de São Paulo.

Tabela 1. Pesquisa de *Salmonella* nas etapas de pós-colheita do amendoim em amostras coletadas no Estado de São Paulo.

Produtor	Etapa	Nº de amostras	<i>Salmonella</i>	
			Nº de amostras positivas (em 250 g)	Contagem (NMP/g)*
A	Arranquio	4	1	0,064 NMP/g
	Enleiramento	5	0	--
B	Arranquio	2	0	--
	Despencamento	5	0	--
C	Arranquio	4	0	--
	Enleiramento	5	0	--
	Despencamento	5	1	0,004 NMP/g

*NMP/g - Número Mais Provável por grama.

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises de *Salmonella* das etapas de beneficiamento de amendoim de amostras coletadas em 3 beneficiadores do Estado de São Paulo.

Tabela 2. Pesquisa de *Salmonella* nas etapas de beneficiamento de amendoim em amostras coletadas no Estado de São Paulo.



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

Beneficiador	Etapa	Nº de amostras	<i>Salmonella</i>	Contagem de amostras (NMP/g)*
			Nº de amostras positivas (em 250 g)	
A	Secagem	1	0	--
	Seleção	3	0	--
	Blancheamento	2	0	--
B	Secagem	4	0	--
	Debulhamento	5	0	--
	Seleção	4	0	--
C	Secagem	5	2	0,004 NMP/g
	Seleção	3	0	--
	Blancheamento	3	0	--

*NMP/g - Número Mais Provável por grama de amostra

Foi encontrado *Salmonella* em quatro amostras de diferentes etapas de pós-colheita e de beneficiamento do amendoim. Na fase de pós-colheita, apresentaram *Salmonella* uma amostra da etapa de arranquio do produtor A (0,064 NMP/g) e uma amostra da etapa de despencamento do produtor C, com contagem de 0,004 NMP/g. Com relação ao beneficiamento, duas amostras da etapa de secagem provenientes do beneficiador C apresentaram *Salmonella*, com contagens de 0,004 NMP/g. As contagens de *Salmonella* detectadas foram inferiores a 1 NMP/g, contudo tem sido constatado em inúmeros estudos que a associação da baixa atividade de água (aw) e do alto teor lipídico de amendoim e castanhas propicia o aumento da resistência térmica da *Salmonella* (Shachar, 2006) e a redução drástica da dose infectante, em alguns casos inferior a 1UFC/g.



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

A contaminação por *Salmonella* está relacionada à fezes de animais de sangue quente (Silva, 2010), podendo contaminar a água e o próprio solo. As possíveis causas de contaminação das amostras no campo são a utilização de água não tratada e o uso de abusos orgânicos contaminados. Com relação às amostras de beneficiamento, a contaminação pode ter origem no campo ou através de contaminação cruzada durante a etapa de recepção e secagem do amendoim.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que as etapas de pós-colheita e beneficiamento do amendoim podem apresentar contaminação por *Salmonella*, podendo comprometer a segurança microbiológica do produto final. Para o não comprometimento do produto final se deve efetuar rigorosas medidas sanitárias nas etapas para reduzir ao máximo, o risco de infecção ao consumidor.

5 AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPQ pelo financiamento do projeto, ao Instituto de Tecnologia de Alimentos pelo apoio e infra-estruturas oferecidos, à Pesquisadora Maristela pelos ensinamentos e aos colaboradores Angélica, Izabel e Neusely.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrews, W. H., et al. *Salmonella*. In: Food and Drug Administration, **Bacteriological Analytical Manual Online**. Chapter 5, updated May 2014. Disponível em <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>>, acesso em 10/06/2014.

Center For Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of *Salmonella* Bredeney infections linked to peanut butter manufactured by Sunland. 2013. Disponível em <http://www.cdc.gov/salmonella/bredeney-09-12/index.html>. Acesso em 03/05/2013.



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

D'Aoust, J.Y. *Salmonella* and the chocolate industry. A review. **Journal of Food Protection**, v. 40, p.718-727, 1977.

Doyle, M.P., Buchanan, R.L. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 4th ed. ASM Press, Washington, p.1118, 2013.

EPA, United State Environmental Protection Agency. AP 42 Confectionary products: peanut processing. In Food and Agricultural Industries, 5th ed, v. 1, 1995. Disponível em <<http://www.epa.gov/ttnchie1/ap42/ch09/>>, acesso em 06/12/2013.

ICMSF, International Commission on Microbiological Specifications for Foods, nuts, oilseeds, dried legumes and coffee. **Microorganisms in Foods 8: Use of data for assessing process control and product acceptance**. Springer, New York, p.227-237, 2011.

Lehmacher, A., Bockemühl, J., Aleksil, S. Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated Paprika and Paprika-powdered potato chips. **Epidemiology & Infection**, v. 115, p.501-511, 1995.

Ma L., et al. Thermal inactivation of *Salmonella* in peanut butter. **Journal of Food Protection**, v. 72, p.1596-1601, 2009.

Shachar, D., Yaron, S. Heat tolerance of *Salmonella enterica* Serovars Agona, Enteritidis and Typhimurium in Peanut butter. **Journal of Food Protection**, v. 11, p.2687-2691, 2006.

Sheth, A. N., et al. A National Outbreak of *Salmonella* Serotype Tennessee Infection From Contaminated Peanut Butter: A New Food Vehicle for Salmonellosis in the United States. **Clinical Infection Diseases**, v. 53, p.356-362, 2011.

Silva, N., et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4^aed. São Paulo, Livraria Varela, p.287-320, 2010.

Werber, D., et al. International outbreak of *Salmonella* Oranienburg due to German chocolate. **BMC Infectious Diseases**, v. 5, p.7-17, 2005.