



LIZIANE VALGOI SPINELLI

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE AMENDOIM  
PROVENIENTES DO MERCADO PÚBLICO DE PORTO ALEGRE/RS**

CANOAS, 2017

LIZIANE VALGOI SPINELLI

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE AMOSTRAS DE AMENDOIM  
PROVENIENTES DO MERCADO PÚBLICO DE PORTO ALEGRE/RS.**

Trabalho de conclusão apresentado à banca examinadora do curso de Nutrição da Universidade La Salle – Unilasalle, como exigência parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anelise Beneduzi da Silveira

CANOAS, 2017

## RESUMO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma leguminosa amplamente consumida por ter grande valor nutricional e por ser considerado um alimento funcional. No entanto, o risco de contaminação por fungos e bactérias, desde a pré-colheita até a estocagem, deste alimento é grande. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar microbiologicamente, quanto à presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes, bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras, amostras de amendoim torrado (pronto para consumo) vendidas no mercado público de Porto Alegre/RS e expostas de três formas diferentes: em dispensador gravitacional, em recipiente comum e embalados da indústria. Os resultados obtidos indicaram que não houve a presença de fungos ou leveduras em nenhuma amostra analisada, mas bactérias mesófilas aeróbias foram encontradas em todos os tipos de armazenagem, sendo que no dispensador gravitacional (amostra 1V) a contagem foi de  $3,7 \times 10^2$  UFC/g, seguida do recipiente comum (amostra 2G) com  $3,6 \times 10^2$  UFC/g e em menor quantidade, o industrializado (amostra 1I) com 1I,  $2,7 \times 10^2$  UFC/g. Coliformes totais foram encontrados nas mesmas amostras citadas anteriormente, 1V ( $2,4 \times 10^2$  NMP/g), 2G ( $1,3 \times 10^2$  NMP/g) e 1I ( $1,1 \times 10^1$  NMP/g) e não houve presença de coliformes termotolerantes. Foram isoladas vinte e sete bactérias caracterizadas como sendo duas Gram negativas e vinte e cinco Gram positivas. Posteriormente estes isolados bacterianos serão identificados quanto ao gênero e/ou espécie, a partir do sequenciamento do gene 16SrRNA. Esta contaminação do amendoim torrado por bactérias, pode vir do não seguimento das boas práticas em fabricação e manipulação, bem como a falta de assepsia no armazenamento do amendoim nos locais de venda e a má higienização dos recipientes.

Palavras-chave: Amendoim. Bolores. Leveduras. Bactérias. Coliformes. Contaminação.

## ABSTRACT

The peanut (*Arachis hypogaea* L.) is a legume widely consumed for having great nutritional value and for being considered a functional food. However, the risk of contamination by fungi and bacteria from pre-harvest to storage of this food is large. The objective of this study was to evaluate microbiologically the samples of roasted peanut (ready for consumption) sold in the public market of Porto Alegre/RS exposed in three

different ways: in gravitational dispenser, bulk bins and packed from the industry regarding the presence of total coliforms, thermotolerant coliforms, aerobic mesophilic bacteria, molds and yeasts. The results indicated that there were no fungi or yeasts present in any of the analyzed samples, but aerobic mesophilic bacteria were found in all types of storage, and in the gravitational dispenser the count was higher (sample 1V,  $3,7 \times 10^2$  UFC/g), followed by bulk bin (sample 2G,  $3,6 \times 10^2$  UFC/g) and to a lesser extent, the industrialized package (sample 1I,  $2,7 \times 10^2$  UFC/g). Total coliforms were found in the same samples 1V ( $2,4 \times 10^2$  NMP/g), 2G ( $1,3 \times 10^2$  NMP/g) e 1I ( $1,1 \times 10^1$  NMP/g) and there were no thermotolerant coliforms. Twenty seven bacteria characterized as two Gram negative and twenty five Gram positive were isolated. Subsequently these will be identified from the 16SrRNA gene sequencing. This contamination of bacteria in roasted peanuts may result from failure to follow good manufacturing and handling practices as well as lack of asepsis in the storage of peanuts at the store and poor sanitation of the containers.

Key words: Peanut. Molds. Yeasts. Bacteria. Coliforms. Contamination.

## 1 INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é considerado uma leguminosa de grande valor nutricional por ser rico em proteínas e lipídios utilizado *in natura*, com seus derivados e também para extração do óleo que é empregado em diversos setores industriais (CUNHA et al. 2013), sendo considerado um alimento funcional por possuir a cada 100g cerca de 0,66mg de vitamina E, 4mcg de selênio e 16,5g de gordura poli-insaturada (TUCUNDUVA, 2013). Segundo DOLINSKY (2009), alimentos funcionais são aqueles que, em forma natural, oferecem benefícios além dos nutrientes de sua composição química e que podem inclusive auxiliar na redução de doenças crônicas não-transmissíveis. A vitamina E e o selênio mostram-se eficientes contra o câncer e doenças relacionadas ao envelhecimento, como a aterosclerose e artrite e o consumo de ácidos graxos poli-insaturados é relacionado com a melhora da concentração de colesterol plasmático, reduzindo a hipercolesterolemia (DOLINSKY, 2009). Por outro lado, o amendoim está entre os principais alimentos alergênicos, ficando atrás apenas do leite de vaca e dos ovos,

podendo ocasionar uma reação anafilática no indivíduo alérgico quando exposto ao alimento. Porém, esta alergia é mais comum entre crianças americanas, sendo que no Brasil o índice é praticamente nulo (COZZOLINO, 2012).

O principal problema relacionado à produção de amendoim é sua contaminação por microrganismos, principalmente fungos produtores de micotoxinas. No armazenamento a umidade é um fator favorável à contaminação de bolores em alimentos com alta quantidade de gordura e baixo teor de água, como o amendoim (JAY, 2005). Conforme destaca FORSYTHE (2013), as micotoxinas são produtos tóxicos derivados do metabolismo de alguns fungos e que possuem alta carcinogenicidade, principalmente a nível hepático. Os fungos produtores de micotoxinas, tais como *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* desenvolvem-se em alimentos tanto de origem animal como vegetal. Em especial, a micotoxina denominada aflatoxina é produzida por algumas espécies de *Aspergillus*, principalmente *A. flavus* e *A. parasiticus*, sendo encontrada com frequência em alimentos como milho, amendoim e leite (FORSYTHE, 2013).

As amostras indicativas, na qual se enquadra o amendoim, não devem ultrapassar o valor de contagem de  $10^4$  para bolores e leveduras por grama (Resolução-RDC nº 12/2001 ANVISA, 2017) devido à problemática de produção de micotoxinas e as amostras também não devem ultrapassar o valor de contagem de  $10^3$  para bactérias coliformes termotolerantes por grama. Um dos métodos utilizados para a verificação do estado de higiene e sanificação dos alimentos é a detecção destes microrganismos indicadores, sendo estes diretamente correlacionados com a presença de patógenos e a ocorrência em ambientes intestinais (JAY, 2005). Os coliformes totais são bastonetes Gram-negativos, não-esporulados e representados por quatro gêneros da família Enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella*, sendo que a *Escherichia coli* se diferencia por ter como seu hábitat primário o trato intestinal do homem e de animais, recebendo o nome de coliforme termotolerante por fermentar a lactose com produção de gás à 44-45,5°C. Os demais gêneros podem ser encontrados no solo e em vegetais além das fezes (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar microbiologicamente as amostras de amendoim torrado (pronto para consumo) vendidas no mercado público de Porto

Alegre/RS, expostas de três formas diferentes: em dispensador gravitacional, em recipiente comum e embalados da indústria, quanto à presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes, bactérias mesófilas aeróbias, bolores e leveduras.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Amostragem**

Um total de seis amostras de amendoim torrado sem sal, disponíveis no Mercado Público de Porto Alegre/RS, foram analisadas microbiologicamente. Quatro amostras foram coletadas nos recipientes à granel sendo duas delas em dispensadores gravitacionais (denominadas amostras 1-V e 2-V) e duas amostras em recipientes comuns (denominadas amostras 1-G e 2-G). Também foram coletados dois exemplares industrializados de marcas distintas (denominadas amostras 1-I e 2-I). Todas as amostras foram adquiridas em estabelecimentos diferentes. Após a coleta, o material foi encaminhado para o Laboratório de Microbiologia Agrícola/Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA) da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação (SEAPI/RS) para as análises.

Os procedimentos seguiram as metodologias descritas por SILVA et al. (2001) com modificações. Primeiramente as amostras de amendoim foram maceradas dentro da própria embalagem em condições assépticas e após, pesadas 25g que foram adicionadas em *erlenmeyers* contendo 225ml de água salina peptonada 0,1%, obtendo-se, assim, a diluição  $10^{-1}$  que ficou em aparelho agitador por 30 minutos. A partir da solução  $10^{-1}$ , retirou-se 10 ml para *erlenmeyers* contendo 90ml de água salina peptonada 0,1%, obtendo-se a diluição  $10^{-2}$ . O processo se repetiu para a obtenção da diluição final  $10^{-3}$ . A partir deste procedimento foram feitos ensaios para quantificar as bactérias mesófilas aeróbias, os bolores e leveduras e os coliformes totais e termotolerantes.

### **2.2 Contagem de bactérias mesófilas aeróbias**

A semeadura para a contagem de bactérias mesófilas aeróbias foi realizada colocando-se 1ml de cada diluição obtida anteriormente em placas de petri contendo meio PCA (*Plate Count Agar*, Himedia). Em seguida foi feito o espalhamento utilizando-se a

alça de *drigalski* previamente flambada com álcool 70%. Cada amostra foi feita em triplicata e mantida em estufa a 35°C por 4 dias e após foi realizada a contagem.

### **2.3 Isolamento de linhagens bacterianas**

As amostras que obtiveram crescimento bacteriano no ágar PCA tiveram uma colônia de cada placa, morfológicamente diferente, isolada e incubada a 30°C em meio líquido TSB (*Tryptone Soya Broth*, Himedia). A partir deste resultado, foi realizada a coloração de Gram para verificação da pureza e da morfologia bacteriana.

### **2.4 Extração de DNA e identificação das linhagens bacterianas isoladas**

As células previamente crescidas foram centrifugadas por 3 minutos a 12.000 rpm. Após o descarte do sobrenadante, foi adicionado ao precipitado (*pellet*) 700µL de TES (10mL/L de Tris 1M pH 8; 50mL/L de EDTA 0,5M pH 8 e 30mL/L de NaCl 5M), seguido de homogeneização e nova centrifugação por 5 min a 12.000 rpm. O sobrenadante foi novamente descartado e então adicionado 500µL de TE1 (10mL/L de Tris 1M pH 8 e 50mL/L de EDTA 0,5M pH 8), homogeneizado até que o *pellet* fosse ressuscitado, para ser acrescentado 25µL de lizozima e então incubado a 37°C por 1 hora. Após as amostras esfriarem a temperatura ambiente, foi adicionado 108µL de dodecil sulfato de sódio 20% (SDS) quente e 19µL de proteinase K e então incubado a 60°C por 15 minutos. Após o esfriamento à temperatura ambiente, foi adicionado 200µL de acetato de amônia 7,5M e acondicionado no gelo por 15 minutos. As amostras foram novamente centrifugadas por 10 minutos a 12.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para novo tubo e completado o volume com água e adicionado 1 volume de clorofórmio, e novamente centrifugado por 5 minutos a 5.000 rpm. O sobrenadante foi coletado e adicionado novamente 1 volume de clorofórmio e centrifugado por 5 minutos a 5.000 rpm. Foram adicionados 8µL de cloreto de sódio 5M e 0,6 volumes de isopropanol gelado, mantido no gelo por 10 minutos e após centrifugado por 15 minutos a 12.000 rpm. Após as amostras secarem em temperatura ambiente o precipitado foi ressuscitado em 30 µL de TE2 (10mL/L de Tris 1M pH 8 e 2mL/L de EDTA 0,5M pH 8) (SAMBROOK, 2001).

## 2.5 Amplificação do gene 16SrRNA

A reação de amplificação teve os seguintes reagentes: 1 µL de DNA molde; 2,5 µL de tampão de PCR 10x; 0,25 µL de uma solução com 0,15 mmol L<sup>-1</sup> de cada DNTP; 1,5 µL de MgCl<sub>2</sub> 50 mmol L<sup>-1</sup>; 1µL de cada oligonucleotídeo 10 mmol L<sup>-1</sup>; 0,4 µL de Taq DNA polymerase (Invitrogen) e água ultra pura estéril para o volume final de 25 µL. As reações foram realizadas com um ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 5 min, seguido por 30 ciclos de amplificação, sendo cada ciclo composto por: 1 fase de desnaturação com duração de 1 min a 94°C, 1 fase de anelamento de 1 min a 51° e uma fase de extensão de 1 min a 72°C. A extensão final teve um ciclo a 72°C por 5 min. As reações foram realizadas em um termociclador Veriti 96 well (*AppliedBiosystem*). Os produtos de amplificação foram corados com *blue green* e visualizados, após em eletroforese a 70 V por 50 min, em gel de agarose 1%. Foi utilizado o marcador molecular 1 Kb plus DNA ladder (Invitrogen) (SAMBROOK, 2001). Os fragmentos obtidos foram sequenciados em uma orientação no laboratório ACTGene do Centro de Biotecnologia, UFRGS e após foram comparadas com as sequencias disponíveis no banco de dados *GenBank* através do programa BLASTN (*National Center for Biotechnology Information*).

## 2.6 Contagem de Bolores e Leveduras

A semeadura para a contagem de bolores e leveduras foi feita transferindo 1 ml de cada diluição obtida anteriormente em placas de petri contendo o meio PDA (*Potato Dextrose Agar*, Himedia) adicionado de ácido tartárico 10%. Em seguida foi feito o espalhamento utilizando-se a alça de *drigalski* previamente flambada com álcool 70%. Cada amostra foi feita em triplicata e mantida em estufa à 29°C por 7 dias e após foi realizada a contagem.

## 2.7 Análise de Coliformes totais e Termotolerantes

Para a quantificação de coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), onde as diluições foram inoculadas em substrato cromogênico Colilert® (*Idexx*), em 3 séries de 5 tubos e estes foram incubados por 24hs à 35°C. Os tubos com mudança da cor original para amarelo foram considerados positivos para coliformes totais. Para a confirmação dos coliformes termotolerantes, os tubos



amarelos foram submetidos à luz ultravioleta, sendo considerados positivos aqueles com emissão de fluorescência azul.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Contagem de bactérias mesófilas aeróbias

Conforme descrito por SILVA et al. (2001), foram consideradas para a contagem as placas com no mínimo 25 colônias, sendo aproximadamente 50% das amostras analisadas. A amostra coletada no dispensador gravitacional 1-V obteve o maior número de colônias bacterianas ( $3,7 \times 10^2$  UFC/g) seguida pela amostra no recipiente comum 2-G ( $3,6 \times 10^2$  UFC/g) conforme consta na tabela 1. Quanto à amostra industrializada 1-I não se esperava encontrar contaminantes, mas houve presença significativa de bactérias ( $2,7 \times 10^2$  UFC/g), ou seja, em todos os tipos de apresentação houve contaminação bacteriana no amendoim. Os itens industrializados de marcas distintas não possuem o selo Pró-Amendoim que garante uma fabricação segura de alimentos à base de amendoim de acordo com as legislações vigentes (ABICAB, 2017). Sugere-se que a maior contagem bacteriana no dispensador gravitacional pode ser justificada pela maior manipulação, visto que este recipiente é localizado em altura, como também a falta de higienização antes da reposição do amendoim.

Tabela 1. Contagem de bactérias mesófilas aeróbias nas diferentes amostras de amendoim torrado coletadas no Mercado Público de Porto Alegre/RS.

<b>Amostra</b>	<b>Tipo de recipiente</b>	<b>UFC/g</b>
1-G	Recipiente comum	0
2-G	Recipiente comum	$3,6 \times 10^2$
1-V	Dispensador gravitacional	$3,7 \times 10^2$
2-V	Dispensador gravitacional	0
1-I	Embalagem industrializada	$2,7 \times 10^2$
2-I	Embalagem industrializada	0

Como o objeto de estudo é o amendoim torrado, as possíveis contaminações bacterianas provavelmente ocorreram na manipulação do alimento após o seu cozimento

ou no manuseio do produto até a venda, pois as temperaturas acima de 90°C utilizadas para torrar os grãos são incompatíveis com a multiplicação de bactérias (FRANCO & LANDGRAF, 2003). SILVA (2002) realizou a contagem de bactérias mesófilas aeróbicas, segundo o método *SimPlate* em amendoim cru industrializado e obteve um resultado semelhante ao deste estudo, entre  $10^2$  a  $10^3$  UFC /g, com a diferença que neste trabalho foi analisado o amendoim já torrado e pronto para o consumo. SOUZA et al. (1987) analisando amêndoas torradas, encontraram o valor de  $1,2 \times 10^4$  para bactérias mesófilas, sendo que esta contaminação provavelmente ocorreu após o processamento do alimento. Ao analisar castanhas de caju processadas, MUNIZ et al. (2006) identificaram bactérias mesófilas aeróbicas em amostras de quatro das seis fábricas estudadas, com um valor de contagem variando de 4,0 a 7,0 log UFC/g.

As contaminações fitopatogênicas podem afetar o amendoim no plantio (solo e água) por algumas bactérias dos gêneros *Corynebacterium*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas*. Na pós-colheita, o ar e a poeira podem estar contaminados mais comumente com bactérias Gram-positivas. Os fatores intrínsecos dos alimentos que são utilizados para estipular os microrganismos que podem estar presentes nos alimentos, são a atividade de água (Aa), a acidez (pH), o potencial de oxi-redução (Eh) e a composição química. Considerando, por exemplo, que a Aa das nozes (que é semelhante ao amendoim) é de 0,66 a 0,84 podemos citar como contaminantes as bactérias halofílicas (valor de Aa mínimo: 0,75) (FRANCO & LANDGRAF, 2003). Porém, na legislação brasileira, a única bactéria que possui parâmetro de detecção para o amendoim é a *Salmonella* sp., devendo estar ausente a cada 25g do alimento (Resolução-RDC nº 12/2001 ANVISA, 2017). CAVALLARO et al. (2011) relacionaram um surto de salmonelose com o consumo de amendoim torrado e subprodutos frisando que a contaminação ocorreu após a primeira torra do alimento e que a *Salmonella* sobrevive em produtos de baixa umidade, como a manteiga de amendoim, por até vinte e quatro meses. Em outro estudo, CARMINATI et al. (2016) analisou a presença de *Escherichia coli* e *Salmonella* em amendoim e subprodutos sendo que a contaminação estava presente apenas no local de trabalho e nos manipuladores, indicando que o processamento foi efetivo na eliminação de bactérias, porém a contaminação cruzada ainda é um fator de risco na indústria alimentícia.

### 3.2 Isolamento e identificação das linhagens bacterianas

A partir do crescimento bacteriano no meio ágar PCA, foram escolhidas as colônias que apresentaram diferentes morfologias, em cada uma das seis amostras. Foram obtidos vinte e sete isolados no total, sendo dois caracterizados como Gram negativos e vinte e cinco como Gram positivos (Tabela 2). O DNA de todos os isolados bacterianos foi extraído e submetidos à PCR para a amplificação de um fragmento do gene 16SrRNA para a posterior identificação das espécies e/ou gêneros a que pertencem as linhagens bacterianas isoladas.

Tabela 2. Caracterização e identificação das linhagens bacterianas isoladas, através da coloração de Gram e do sequenciamento do fragmento 16SrRNA.

<b>Isolado / Amostra</b>	<b>Gram</b>	<b>Identificação</b>
1 – 1G	Coco bacilo Gram Negativo	Aguardando identificação
3 – 2G	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
4A – 2G	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
4B – 2G	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
6 – 2G	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
7 – 2G	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
9 – 2G	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
10 – 2G	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
12A – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
12B – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
13 – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
14 – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
15 – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
16 – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
17 – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
31 – 1V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
19 – 2V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
20 – 2V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação

21 – 2V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
22A – 2V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
22B – 2V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
23 – 2V	Cocos Gram Positivo	Aguardando identificação
32 – 2V	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
24 – 1I	Bacilo Gram Negativo	Aguardando identificação
27 – 1I	Cocos Gram Positivo	Aguardando identificação
28 – 1I	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação
30 – 2I	Bacilo Gram Positivo	Aguardando identificação

### 3.3 Contagem de Bolores e Leveduras

Não houve crescimento de bolores e leveduras nas amostras de amendoim analisadas. Por se tratar de amostras de amendoim torrado, a possível contaminação fúngica vinda da colheita e armazenamento pode ter sido eliminada no processo de torra, visto que, segundo JAY (2005), bolores e leveduras dificilmente crescem em faixas de temperaturas termofílicas (entre 55°C e 65°C). Em amêndoas torradas, conforme analisaram SOUZA et al. (1987), não houve crescimento de bolores e leveduras, assim como neste estudo, na qual o processamento do amendoim foi eficiente na eliminação destes microrganismos.

### 3.4 Análise de coliformes totais e termotolerantes

A análise do índice de coliformes, realizada pela técnica do número mais provável (NMP), evidenciou que os coliformes totais foram encontrados em três das seis amostras analisadas, as mesmas amostras que também estavam com contaminação bacteriana: 2-G, 1-V e 1-I. A amostra 1-V teve o maior índice de coliformes totais com  $2,4 \times 10^2$  NMP/g, a amostra 2-G teve o valor de  $1,3 \times 10^2$  NMP/g e a amostra 1-I o menor valor de  $1,1 \times 10^1$  NMP/g, conforme a tabela 3. Não foi constatada a presença de coliformes termotolerantes em nenhuma das amostras analisadas. SILVA (2002) reportou o valor de  $10^1$  NMP/g para coliformes totais e isenção de coliformes termotolerantes em amendoim cru industrializado. Um estudo com castanhas de caju torradas constatou o número médio de 3,30 NMP/g tanto de coliformes totais quanto de coliformes termotolerantes para itens

industrializados (RODRIGUES et al. 2012). Esta presença de coliformes totais em alimentos como o amendoim, representa a falta de procedimentos assépticos que o produto recebeu desde os manipuladores até seu armazenamento. Apesar de não haver níveis de referência para coliformes totais na legislação vigente, deseja-se que este número seja o menor possível (Resolução-RDC nº 12/2001). CARMINATI et al. (2016) analisou a quantidade de coliformes na fabricação de subprodutos de amendoim, sendo que a presença se deu apenas na matéria-prima, evidenciando que o processamento do amendoim foi eficaz para a eliminação de coliformes.

Tabela 3. Resultados da análise de coliformes totais e termotolerantes nas diferentes amostras de amendoim torrado coletadas no Mercado Público de Porto Alegre/RS.

<b>Amostra</b>	<b>Coliformes totais NMP/g</b>	<b>Coliformes termotolerantes NMP/g</b>
1-G	0	0
2-G	$1,3 \times 10^2$	0
1-V	$2,4 \times 10^2$	0
2-V	0	0
1-I	$1,1 \times 10^1$	0
2-I	0	0

#### 4 CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou que a torra do amendoim é eficiente para eliminação dos fungos e leveduras provenientes da pré-colheita até a estocagem. No entanto, a etapa de manipulação do alimento após o processamento, provavelmente foi a causadora da contaminação do amendoim por bactérias e da presença de coliformes totais em todos os tipos de armazenagem analisados, sendo que em dispensador gravitacional a contagem foi maior, seguida do recipiente comum e em menor quantidade, o industrializado. Não foi observado o crescimento de fungos ou leveduras ou a presença de coliformes termotolerantes. Foram isoladas vinte e sete linhagens bacterianas contaminantes, sendo estas duas Gram negativas e vinte e cinco Gram positivas, que aguardam identificação do gênero e/ou espécie a que pertencem. Esta contaminação pode vir do não seguimento das

boas práticas em fabricação e manipulação bem como a falta de assepsia no armazenamento do amendoim nos locais de venda e a má higienização dos recipientes.

## REFERÊNCIAS

ABICAB. **Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados** Disponível em: < <http://www.abicab.org.br/> >. Acesso em: 26 jun. 2017.

ANVISA. **Resolução – RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001** Disponível em: < <http://www.portal.anvisa.gov.br/> >. Acesso em: 16 abril. 2017.

CARMINATI, J. de A. et al. **Microbiological contamination in peanut confectionery processing plants**. Journal of Applied Microbiology, Campinas, SP: 2016.

CAVALLARO, Elizabeth et al. **Salmonella Typhimurium Infections Associated with Peanut Products**. The New England Journal of Medicine, Massachusetts Medical Society: 2011.

COZZOLINO, Silvia M. Franciscato. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 4. ed. Barueri, SP: Editora Manole Ltda, 2012.

CUNHA, Jussara B. de Alencar et al. **Diversidade cultural de bactérias isoladas de nódulos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) cultivados em solos do Nordeste do Brasil**. XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Florianópolis, 2013.

DOLINSKY, Manuela. **Nutrição Funcional**. 1. ed. São paulo, SP: Roca, 2009.

FRANCO BDGM, LANDGRAF M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2003.

FORSYTHE, J. Stephen. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2013.

JAY, James M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005.

MUNIZ, Celli Rodrigues et al. **Effect of Processing Conditions on the Microbiological Quality of Cashew Nuts**. Brazilian Journal of Food Technology, v.9, n.1, p. 33-38, 2006.

RODRIGUES, Aline Maria Dourado et al. **Qualidade microbiológica de castanhas de caju (*Anacardium occidentale*, L.) industrializadas e processadas artesanalmente**. Rev Inst Adolfo Lutz, São Paulo, SP: 2012.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D.W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Nova Iorque: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SILVA, Maria Cecília. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. USP, Piracicaba, SP: 2002

SILVA, Neusely et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo, SP: Varela, 2001.

SOUZA, Maria Luzenira et al. **Caracterização microbiológica de amêndoa torrada e salgada de castanha-do-brasil**. Ciência Agronômica, Fortaleza, CE: 1987.

TUCUNDUVA, Sonia. **Tabela de Composição de Alimentos**. 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2013.