

Avaliação da qualidade microbiológica da erva-mate chimarrão produzida e comercializada na cidade de Canoinhas-SC⁽¹⁾.

Tais Camargo de Moura⁽²⁾; Maria Alice Machado⁽³⁾; Duane de Fátima Guesser⁽⁴⁾; Graciele Viccini Isaka⁽⁵⁾.

Resumo Expandido

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Edital nº 38/2011, da Pró-Reitoria de Pró-Reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação do IFSC / CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico)

⁽²⁾ Bolsista PIBIC/EM-CNPq; Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC); Canoinhas, SC; taais_camargo@hotmail.com;

⁽³⁾ Bolsista PIBIC/EM-CNPq; IFSC; Canoinhas, SC; maria-lice-machado@hotmail.com; ⁽⁴⁾ Bolsista PIBIC/EM-CNPq; IFSC; Canoinhas, SC; duane_fgnesser@yahoo.com.br; ⁽⁵⁾ Professora; IFSC; Canoinhas, SC; graciele.viccini@ifsc.edu.br

RESUMO: A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) desempenha importante papel socioeconômico, principalmente nas pequenas propriedades agrícolas da região sul do Brasil. Para a produção de uma erva-mate para chimarrão de boa qualidade é indispensável ter uma matéria-prima de boa qualidade, a qual vem diretamente do campo. O beneficiamento não melhora as condições sanitárias, podendo apenas reduzir a contaminação microbiana inicial, mas nem sempre a uma carga microbiana suficientemente segura para o consumidor. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica da erva-mate chimarrão produzida e comercializada no município de Canoinhas-SC. Foram avaliadas 15 amostras de diferentes marcas de erva-mate, por meio da quantificação de bactérias aeróbias mesófilas, de bolores e leveduras, de Coliformes totais e termotolerantes, e pesquisa de *Salmonella* spp. Os resultados obtidos foram comparados com os padrões microbiológicos determinados para erva-mate pela Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelos "Métodos de Controle de Qualidade para Plantas Medicinais" da Organização Mundial da Saúde (OMS). Os resultados revelaram que apenas uma das amostras estava fora dos padrões estabelecidos pela legislação para *Salmonella* spp. Ao contrário, para Coliformes totais e termotolerantes, bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras todas as amostras estavam de acordo com a legislação. Assim, pode-se concluir que a maioria das amostras de erva-mate analisadas são adequadas para o consumo humano.

Palavra Chave: *Ilex paraguariensis*; Microrganismo; Segurança alimentar.

INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) desempenha importante papel socioeconômico, principalmente nas pequenas propriedades agrícolas da região sul do Brasil (DA CROCE, 2000).

A forma mais difundida para saborear a erva-mate é o chimarrão, bebida estimulante preparada por infusão com água quente e em recipientes típicos conhecidos como cuia (SANTOS, 2004). Esse modo de preparo é a principal forma de consumo do produto no Brasil, correspondendo a 90% do produto ofertado ao mercado consumidor (RUCKER, 1996), sendo os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul os maiores produtores de erva-mate para chimarrão (PARANÁ; RUCKER, 2000).

Em termos gerais, as contaminações microbianas dos alimentos são indesejáveis e nocivas, podendo resultar em produtos de má qualidade, com perda nutricional, dano estético, depreciação do valor comercial e risco para a saúde do consumidor (ZEGARRA et al., 2009).

Por se tratar de produto extremamente desidratado poucos são os microrganismos que podem se multiplicar neste material. Entretanto, os fungos filamentosos por apresentarem estruturas de

resistência, podem permanecer no produto até que existam condições físicas e nutricionais para o seu desenvolvimento. O tempo e as condições de armazenamento relacionadas aos tipos de embalagens podem propiciar o desenvolvimento destes microrganismos (RUPOLLO et al., 2004). Além disso, podem ocorrer contaminações durante o processo e a manipulação da erva-mate. Por fim, a presença de sujidades de diferentes tipos na erva-mate podem desenvolver microrganismos que comprometem a qualidade do produto (WHO, 1998). Também podem desenvolver fungos que produzem micotoxinas e que causam danos severos a saúde (BORGES et al., 2003). Estes estudos revelam a baixa qualidade higiênica da erva-mate comercializada, o que ressalta a importância do cuidado higiênico-sanitário com a manipulação de alimentos.

Assim, como não foi encontrada pesquisa referente à qualidade da erva-mate em Canoinhas (SC), este trabalho visou avaliar a qualidade microbiológica da erva-mate chimarrão produzida e comercializada nessa cidade.

METODOLOGIA

Foram avaliadas 15 amostras de erva mate chimarrão de diferentes marcas, comercializadas no

município de Canoinhas-SC. A coleta foi realizada no período de maio a novembro de 2012. As amostras adquiridas encontravam-se dentro do prazo de validade estipulado nas embalagens e foram transportadas ao laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Santa Catarina Campus Canoinhas, onde foram realizadas as análises.

Pesagem e diluição das amostras

As embalagens de erva-mate foram submetidas à limpeza com álcool 70%. De cada uma foram retiradas assepticamente 25 g e homogeneizadas em 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1% para obter a diluição 10^{-1} . A partir desta, foram feitas diluições decimais sucessivas até 10^{-5} em tubos de ensaio com 9 mL de água peptonada tamponada 0,1%.

Contagem total de aeróbios mesófilos em placas

A partir das diluições decimais, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas com Ágar Padrão para Contagem (PCA) e espalhadas com alça de Drigalski. As amostras foram incubadas a 35°C por 48 horas (SILVA *et al.*, 2010).

Contagem de coliformes totais e de coliformes termotolerantes

A partir das diluições decimais, alíquotas de 1 mL foram transferidas para séries de três tubos com 10 mL Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durham, incubados a 35°C por 48 horas (teste presuntivo). Após, foram selecionados tubos com produção de gás no interior do tubo de Durham. A partir deles, transferiu-se uma alçada de cada um para dois tubos, um com Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e outro com Caldo Escherichia coli (EC). Os tubos com Caldo VB foram incubados a 35°C por 48 horas, para verificar a presença de coliformes totais, e os tubos com Caldo EC foram incubados a 45,5°C por 48 horas, para verificar a presença de coliformes termotolerantes (SILVA *et al.*, 2010).

Detecção de *Salmonella* ssp.

Foram homogeneizados 25 g de cada amostra em 225 mL de Caldo de Pré-enriquecimento e incubados a 35°C por 24 horas. Após, foi transferido 1 mL para um tubo de ensaio com 10 mL do Caldo Selenito-Cistina (SC) e incubado a 35°C por 24 horas, e 0,1 mL para um tubo com 10 mL do Caldo Rappaport Vassiliadis (RV) e incubado a 41°C por 24 horas. Da cultura em RV, estriou-se uma alçada (estrias de esgotamento) em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), Ágar Salmonella Shigella (SS) e Ágar Verde Brilhante Modificado (VBM). O mesmo procedimento foi feito para a cultura em SC. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas (SILVA *et al.*, 2010).

Contagem de Bolores e Leveduras

A partir das diluições decimais, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas com Ágar Dicloran Glicerol 18 e espalhadas com alça de Drigalski. As amostras foram incubadas a 25°C por 5 dias (SILVA *et al.*, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 15 amostras de erva-mate analisadas, apenas uma amostra apresentou discordância com o padrão microbiológico estabelecido pela ANVISA, RDC nº12 (BRASIL, 2001) para *Salmonella* spp., visto que a legislação determina ausência desse microrganismo em 25 gramas do produto analisado (Tabela 1). Vale ressaltar que não foi realizada a série bioquímica para comprovar a presença da bactéria, entretanto, as colônias que se desenvolveram nas placas de Petri contendo três meios de cultivo distintos foram comparadas com a literatura e apresentam características de colônias típicas de *Salmonella* spp.

Tabela 1 – Detecção de Salmonella spp. em amostras de erva-mate.

Amostra	Placas de Petri com diferentes meios de cultivo		
	Ágar SS	Ágar XLD	Ágar VBM
1	Ausência	Ausência	Ausência
2	Ausência	Ausência	Ausência
3	Presença	Presença	Presença
4	Ausência	Ausência	Ausência
5	Ausência	Ausência	Ausência
6	Ausência	Ausência	Ausência
7	Ausência	Ausência	Ausência
8	Ausência	Ausência	Ausência
9	Ausência	Ausência	Ausência
10	Ausência	Ausência	Ausência
11	Ausência	Ausência	Ausência
12	Ausência	Ausência	Ausência
13	Ausência	Ausência	Ausência
14	Ausência	Ausência	Ausência
15	Ausência	Ausência	Ausência

Em relação aos coliformes totais, todas as amostras apresentaram valores inferiores a 1×10^4 NMP/g (Tabela 2). A contagem desse microrganismo, embora não exigida pela legislação, indica as condições higiênicas em que o produto foi elaborado. Quanto aos coliformes termotolerantes, todas as amostras apresentaram resultados satisfatórios, estando dentro do padrão microbiológico estabelecido pela RDC nº 12

(BRASIL, 2001), a qual determina tolerável, para esse tipo de alimento, contagens $< 1 \times 10^3$ NMP/g (Tabela 2). A presença de coliformes termotolerantes é um indicativo de manipulação incorreta e falta da aplicação de procedimentos de Boas Práticas de Fabricação (BPF), podendo ser considerado um indicativo de contaminação de origem fecal, evidenciando, assim, risco para a saúde dos consumidores (PINTO *et al.*, 2011). Berté *et al.* (2006) obtiveram resultados semelhantes para coliformes totais e termotolerantes, durante 180 dias de armazenagem, sendo que, todas as determinações apresentaram resultados < 3 NMP/g. Mendes (2005) também verificou a presença de coliformes totais e termotolerantes em 8 amostras analisadas. Os valores encontrados para amostras da região Norte e para amostras da região Oeste do estado de Santa Catarina, variaram entre $< 3,0$ a $2,4 \times 10^2$ NMP/g para coliformes totais e $< 3,0$ a $9,0 \times 10^1$ NMP/g para coliformes termotolerantes. Todos os resultados estavam em conformidade com a legislação RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

Das amostras analisadas nenhuma apresentou contagem superior a $7,0 \times 10^4$ UFC/g de bactérias aeróbias mesófilas. O resultado foi considerado satisfatório, pois está de acordo com o padrão estabelecido Organização Mundial da Saúde (OMS), que estabelece o limite de $< 1 \times 10^7$ UFC/g (OMS, 1998) (Tabela 2).

Da mesma forma, para contagem de bolores e leveduras todas as amostras estavam dentro dos padrões estabelecidos pela OMS que determina o limite máximo de 1×10^4 (OMS, 1998) (Tabela 2).

A erva-mate pode sofrer alterações durante sua estocagem devido ao crescimento microbiano em função da absorção de umidade. Essa situação foi comprovada por Bernardi *et al.* (2005) que analisaram 34 amostras de erva-mate e encontraram fungos dos gêneros *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. como contaminantes.

Borges *et al.* (2002) realizaram contagem de fungos filamentosos e leveduras em cinco marcas de erva mate, adquirida em estabelecimentos comerciais de Curitiba, visando à quantificação, isolamento e identificação de gêneros potencialmente micotoxigênicos. Os fungos isolados e identificados foram *Aspergillus* sp. (62,13%), *Penicillium* sp. (32,35%) e *Rhizopus* sp. (5,52%), sendo os dois primeiros considerados potencialmente micotoxigênicos e o último considerado contaminante comumente encontrado em alimentos. Vale destacar que micotoxinas, dependendo da quantidade ingerida, podem ser nocivas à saúde humana, vindo a ser carcinogênicas ou hepatotóxicas (BERNARDI *et al.*, 2005).

Na etapa de “sapeco” a erva-mate é submetida ao aquecimento, que varia dos 400° C na entrada e 65° C na saída, com tempo de residência em torno de oito minutos. Na etapa seguinte, chamada de “secagem”, a temperatura varia de 90 a 110° C e o tempo médio é de 3h (ESMELINDRO *et al.*, 2002) Com a utilização desta

metodologia de preparo, muitas estruturas fúngicas, principalmente vegetativas, provavelmente são inativadas, tornando o material livre de muitos microrganismos. Entretanto, se o procedimento posterior de embalagem não for feito seguindo normas de BPF, os microrganismos poderão se proliferar caso encontrem condições adequadas (BERNARDI *et al.*, 2005).

Assim, para a produção de uma erva-mate para chimarrão de boa qualidade é indispensável contar com uma matéria-prima de boa qualidade, que venha do campo, tendo em vista o uso de boas práticas agrícolas nas etapas de corte, coleta e transporte, devendo, nessas etapas, serem respeitadas as condições adequadas de higiene. O processo de beneficiamento da erva-mate não pode melhorar as condições sanitárias, podendo apenas reduzir a contaminação microbiana inicial, mas nem sempre a uma carga microbiana suficientemente segura para o consumidor desse alimento (BERTÉ *et al.*, 2006).

CONCLUSÕES

De todas as amostras de erva-mate analisadas, somente uma (6,7%) apresentou discordância com o padrão microbiológico estabelecido pela ANVISA, RDC nº12 (BRASIL, 2001) para *Salmonella* spp., visto que a legislação determina ausência desse microrganismo em 25 gramas do produto analisado.

O restante das amostras (93,3%) estavam de acordo com os padrões estabelecidos para erva-mate pela RDC nº 12 (BRASIL, 2001) e pela OMS (OMS, 1998), sendo consideradas próprias para o consumo humano.

É importante a constante e efetiva fiscalização do produto pelos órgãos competentes, treinamentos aos manipuladores e maiores cuidados com a matéria-prima utilizada, até o final do processo visando, assim, garantir a qualidade e a segurança da erva-mate consumida pela população.

Os resultados demonstraram-se confiáveis e atuais, podendo contribuir para um avanço da qualidade do produto fornecido na região.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento desse projeto de pesquisa por meio do Edital PIBIC EM Nº 38/2011/PRPPG (chamada 2012/2013) – Bolsa de Iniciação Científica para o Ensino Médio, e ao IFSC por ceder o espaço para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

BERNARDI, E.; CALDEIRA, F.M.; NASCIMENTO, J.S. Identificação de fungos filamentosos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, 72, n.4, p.489-493, out./dez., 2005.

- BERTÉ K.A.S.; FREITAS, R.J.S.; RUCKER, N.G.A.; RAPACCI, M.; Vida de prateleira: Microbiologia da erva mate chimarrão. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, 25, n.1, p.95-98, 2006.
- BORGES, L.R.; LAZZARI, S.M. N. LAZZARI, F.A. Análises de matérias estranhas em amostras de Erva-Mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil., provenientes de sistemas de cultivo nativo e adensado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São paulo, v.62, n.2, p.77-82, 2003.
- BORGES, L.R.; PIMENTEL, I.C.; BEUX, M.R.; TALAMINI, A. Contagem de fungos no controle de qualidade da erva mate (*Ilex paraguariensis*) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Vol. 20, n. 1, 2002.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2 de janeiro de 2001.
- DA CROCE, D.M. **Cadeias produtivas de Santa Catarina: Erva-mate**. Florianópolis: Epagri, 2000. 41p.
- ESMELINDRO, M.C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.2, p. 193-204, 2002.
- MENDES, R.M.O. **Caracterização e Avaliação da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), beneficiada no estado de Santa Catarina**. Dissertação apresentada como requisito parcial a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química. Curso de Pós-graduação em Engenharia Química. Florianópolis: UFSC, 2005. 66p.
- PARANÁ, C.G.M.; RUCKER, N.G.A. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba: MCT/CNPq/PADCT, n.1, 160 pags., 2000
- PINTO, F.G.S; SOUZA, M.; SALING, S.; MOURA, A.C. Qualidade Microbiológica de queijo minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.2, p.191-198, abr./jun., 2011
- RUCKER, N.G.A. **Análise do agronegócio da erva-mate**. SEAB/DERAL, Curitiba, 38pags., 1996.
- RUPOLLO, G.; GUTKOSKI, L.C.; MARINI, L.J.; ELIAS, M.C.; Sistemas de armazenamentos hermético e convencional na conversabilidade de grãos de aveia. **Ciência Rural**, v.34, n. 6, p.1715-1722, 2004.
- SANTOS, K.A. **Estabilidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) em embalagens plásticas**. Teses. Curso de Engenharia Química, Curitiba, 107pags., 2004.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. A.; TANIWAKIL, M.H.; SANTOS, F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos**. 4ª ed. São Paulo: Varela, 2010.
- OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO). **Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials**. Geneva: WHO, 1998. 115 p.
- ZEGARRA, J.J.Q. et al. Pesquisa de microrganismos em utensílios, leite e queijos de produção artesanal em unidades de produção familiar no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Ciência Animal Brasileira**, 10, n. 1, p. 312-321, 2009.

Tabela 2 – Resultados das análises microbiológicas da erva-mate

Amostra	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	Bolores e Leveduras (UFC/g)	Bactérias Aeróbias Mesófilas (UFC/g)
1	0	0	2×10^3	$< 1,0 \times 10^2$ est
2	$< 1,8$	$< 1,8$	4×10^2	$3,0 \times 10^3$
3	$4,5 \times 10^1$	$< 1,8$	1×10^2	$< 1,0 \times 10^2$ est.
4	$1,7 \times 10^1$	$6,1 \times 10$	$1,1 \times 10^3$	$4,3 \times 10^4$
5	$< 1,8$	$< 1,8$	3×10^4	$5,0 \times 10^2$ est.
6	$1,7 \times 10^1$	$< 1,8$	3×10^2	$2,5 \times 10^4$
7	2×10^1	2×10^1	1×10^2	$8,0 \times 10^2$ est
8	$6,1 \times 10^1$	$< 1,8$	$1,5 \times 10^1$	$2,3 \times 10^3$ est.
9	$< 1,8$	$< 1,8$	$2,4 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$ est.
10	$1,4 \times 10^1$	$< 1,8$	1×10^2	$1,7 \times 10^2$
11	$9,3 \times 10^1$	2×10^1	4×10^3	$3,1 \times 10^2$
12	$1,7 \times 10^1$	$1,3 \times 10^1$	$2,0 \times 10^3$	7×10^4
13	$7,8 \times 10^1$	$< 1,8$	$2,3 \times 10^3$	5×10^4
14	$< 1,8$	$< 1,8$	4×10^2	$< 1,0 \times 10^2$
15	$4,5 \times 10^1$	$< 1,8$	$1,9 \times 10^3$	2×10^3