

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ERVA-MATE

DANIELA SANCHES MEDEIROS¹; VIOLETA GONÇALVES HENCES²; ALICE PEREIRA LOURENSON³; ANA PAULA PICOLO SLAVIEIRO⁴; ELIEZER AVILA GANDRA⁵; MÁRCIA AROCHA GULARTE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – danielasanchesmedeiros@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - lolohences@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - alicelourenson@gmail.com

⁴Engenheira de Alimentos - eng.alimentos@baraoervamate.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – marciagularte@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill), advém naturalmente do Brasil, Paraguai e Argentina, todavia, mais de 80% do total situa-se no bioma brasileiro Mata Atlântica. No Brasil, o cultivo ocorre a partir da porção centro-oeste do Rio Grande do Sul (RS) e adentra no estado de Santa Catarina (OLIVEIRA & ROTTA, 1985). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o RS é responsável pela produção de 242.018 toneladas, com uma área colhida de 24.296 hectares no ano de 2021 (IBGE, 2021).

Segundo Lima (2007), as Boas Práticas de Fabricação (BPF), são um conjunto de regras, princípios e procedimentos adotados para o correto manuseio dos alimentos, que visa garantir a segurança do produto e a integridade do consumidor. A embalagem pode ser identificada como um obstáculo para o crescimento microbiológico, por agir como barreira para as influências do meio externo, evitando a degradação e resultando em alimentos que são estáveis à temperatura ambiente (CHIRIFE, J. & G.J. FAVETTO, 1992).

A Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), (BRASIL, 2022) regulamenta os padrões microbiológicos sanitários, e determina para produtos alimentícios consumidos após adição de líquido com emprego de calor, a ausência de *Salmonella* spp., e para contagem de coliformes, tolerância máxima de 10³ NMP/g do produto (BRASIL, 2022). No entanto, não são estabelecidos valores referentes a fungos (bolores e leveduras), os quais podem ser um fator preocupante relacionado à saúde humana (CARVALHO *et al.*, 2009).

Em contrapartida, a Organização Mundial da Saúde (OMS), estabelece o limite de 1x10⁷ UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas, já para bolores e leveduras a contagem deve ser inferior a 1x10⁴ UFC/g (OMS, 1998).

Diante do exposto, objetivou-se a identificar os microrganismos presentes na erva-mate já processada.

2. METODOLOGIA

A amostra de erva-mate utilizada foi do tipo tradicional, adquirida diretamente com a empresa, não havendo necessidade de tratamento no laboratório. O produto possui granulometria mista, sendo que parte é moída em soque e parte em atritor, e foram avaliadas nos próximos dias após o

processamento. As amostras foram encaminhadas e analisadas no Laboratório de Ciência dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM) localizado na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) -Campus do Capão do Leão.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as recomendações propostas pela *American Public Health Association* (APHA) (DOWNES & ITO, 2001) com modificações. As amostras foram pesadas e identificadas assepticamente e submetidas a diluições seriadas até a diluição 10^{-3} .

Para a enumeração de coliformes termotolerantes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva de coliformes foi realizada em Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST), com incubação a 37°C por 48 horas. A enumeração de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* (EC), com incubação a 45,5°C por 24 horas. Os resultados foram expressos em NMP/g.

A partir de cada tubo positivo de caldo EC foi semeada uma placa com meio de cultura ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), que foi incubada a 37°C por 24 horas. Nestas placas colônias com morfologia característica foram identificadas como *E. coli* (com brilho verde metálico com ou sem centro preto) e foram confirmadas pelo método do IMVIC composto pelos testes de produção de Indol, reações de Vermelho de Metila, Voges-Proskauer e Citrato. Também foi utilizada a tabela NMP para calcular o "Número Mais Provável" de *E. coli* por grama de alimento.

Para o isolamento de *Salmonella* spp. foi realizado pré-enriquecimento em água peptonada tamponada a 37°C por 24 horas, enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis a 42°C por 24 horas e Caldo Tetratoato a 37°C por 24 horas. Em seguida, foi feita semeadura em placas de Ágar Desoxicolato-Lisina-Xilose (XLD) e Ágar Hektoen-Enteric (HE), sendo ambos incubados por 24 horas a 37°C. Colônias típicas foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Ferro (TSI), Ágar Lisina Ferro (LIA) e Ágar Urease a 37°C por 24 horas. As amostras que apresentaram reação bioquímica característica foram submetidas à identificação sorológica, utilizando-se os soros polivalentes anti-salmonella somático e flagelar (Probac). O resultado foi expresso em presença ou ausência de *Salmonella* spp.

A quantificação dos microrganismos mesófilos aeróbios foi efetuada por plaqueamento das diluições em Ágar Padrão para Contagem (PCA), após as placas foram incubadas a 37 °C por 48 h. Os resultados foram expressos em UFC/g.

Para a contagem de fungos (bolores e leveduras), foi utilizado o método de plaqueamento em Ágar Batata Dextrose, sendo as placas incubadas a 25 °C. Foram realizadas contagens aos três e aos cinco dias de incubação. O resultado foi expresso em UFC/g.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, apresentaram valores de 1,5 e <0,3 respectivamente. A Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 estabelece que para contagem de coliformes é permitido a tolerância máxima de 10^3 NMP/g (BRASIL, 2022). Com isso, é possível observar com base nos padrões microbiológicos, a amostra de erva-mate encontra-se em acordo aos limites estabelecidos pela legislação.

Quando detectado em amostras, sua presença é um importante indicativo de manipulação incorreta e falta da aplicação de procedimentos de Boas Práticas de Fabricação (BPF), podendo inclusive ser considerado um indicativo de contaminação de origem fecal, no caso de *E. coli*, evidenciando assim, risco para a saúde dos consumidores (PINTO *et al.*, 2011).

Na Tabela 1 estão expostos os resultados das análises microbiológicas de erva-mate.

Tabela 1: Análises microbiológicas na erva-mate

Determinações microbiológicas	
Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	1,5
<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	<0,3
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência
Bactérias mesófilas aeróbicas	Ausência
Bolores e Leveduras (UFC/g)	2×10^4

Na análise de *Salmonella* spp. verificou-se ausência em 25/g de amostra, isto vai ao encontro com o que estabelece a Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 (BRASIL, 2022), demonstrando que a amostra de erva-mate está dentro dos padrões microbiológicos. No estudo realizado por Burgardt (2000) foram determinadas as características microbiológicas da erva-mate, e também se obteve ausência de *Salmonella* spp em 25g de amostra.

Este resultado passa credibilidade ao produto e seu processo de fabricação, uma vez que a *Salmonella* spp é capaz de causar graves infecções e é responsável por muitos surtos de origem alimentar (BEZERRA, 2015).

A contagem de bactérias mesófilas aeróbicas indicou ausência nas amostras avaliadas. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelece que para bactérias mesófilas aeróbicas não deve ultrapassar o limite de 1×10^7 UFC/g (OMS, 1998), sendo possível afirmar que a amostra de erva-mate se encontra dentro do que determina a OMS. Em estudos realizados por Bordenave *et al.*, (2003) encontraram na contagem de bactérias mesófilas uma variação na ordem de $<10^2$ a 10^5 UFC/g, demonstrando que se encontrava dentro dos limites da OMS, porém, não foram resultados tão promissores quanto do presente estudo.

A contagem de bactérias mesófilas anaeróbicas é um indício do número total de bactérias no produto e sua quantificação é tomada como parâmetro para avaliação da contaminação bacteriana (ICSM, 2000) e com isso é possível afirmar que a amostra de erva-mate analisada está em conformidade, sem acarretar riscos à saúde dos consumidores.

Para a contagem de bolores e leveduras, a amostra de erva-mate apresentou valor de 2×10^4 UFC/g. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelece que para bolores e leveduras a contagem deve ser inferior a 1×10^4 UFC/g (OMS, 1998), isto demonstra que a amostra se apresentou ligeiramente acima do preconizado pela OMS.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que as amostras analisadas se apresentam em acordo aos padrões microbiológicos preconizados pela legislação brasileira vigente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da saúde. **Instrução Normativa - in nº 161, de 1º de julho de 2022**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 1º de julho de 2022.
- BEZERRA, N. S. Pesquisa de Salmonella spp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em hortaliças comercializadas em estabelecimento formal e não formal de João Pessoa – PB. Monografia. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2015
- BORDENAVE AS, DUCE JA, YBARRA LR, CAÑETE LA. **Correlacion de las cenizas y humedad de hojas de yerba mate y la calidad microbiologica de yerba mate canchada estacionada**. In: 3º Congresso Sul – Americano da Erva-Mate. Chapecó: 1a Feira do Agronegócio de Erva-Mate, 2003: 26-32
- Burgardt AC. **Desenvolvimento de uma bebida utilizando extrato de erva-mate (Ilex paraguariensis St. Hil.)** [Dissertação de mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2000. 133 pp.
- CARVALHO, S.; STUART, R. M.; PIMENTEL, I. C.; DALZOTO, P. R.; GABARDO, J.; ZAWADNEAK, M. A. C. Contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e erva-mate. **Rev Inst Adolfo Lutz**. n. 68, v.1, p. 91-95, 2009
- CHIRIFE, J. & G.J. FAVETTO (1992) **Food Res Internat**. **25**: 389-96.
- DOWNES, F.P; ITO, H. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 676 p. 2001.
- ICSMF. **Microrganismos Alimentares 1. Seu significado e métodos de enumeração**. Ed. ICSMF.2ª Ed. Acribia, Saragoça, Espanha. páginas 111-146. 2000
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Produção Agrícola Municipal 2021. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Acessado em: 30 ago 2023. Online. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br>
- LIMA, A. **BPF-Boas Práticas de Fabricação**. 1º ed. Recife, Federação das Indústrias do Estado de Pernambuco – FIEPE, 2007
- OLIVEIRA, Y. M. M.; ROTTA, E. **Área de Distribuição natural da erva-mate**. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 10., 1983, Curitiba. Anais... Curitiba: EMBRAPA/CNPFLoresta, 1985. p.17-36.1985
- PINTO, F. G. S. et al. **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