

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS DOIS VIZINHOS
BACHARELADO EM AGRONOMIA

RAFAELA MENDES FERRON

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ERVA-MATE (*ILEX
PARAGUARIENSIS* ST. HILAIRE) UTILIZADA NO PREPARO DO
CHIMARRÃO COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE
DOIS VIZINHOS - PR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS

2017

RAFAELA MENDES FERRON

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ERVA-MATE (*ILEX
PARAGUARIENSIS* ST. HILAIRE) UTILIZADA NO PREPARO DO
CHIMARRÃO COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE
DOIS VIZINHOS - PR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do curso Superior de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de "Engenheiro Agrônomo".

Orientadora: Profa. Dra. Marcela Tostes Frata

DOIS VIZINHOS

2017



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ERVA-MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS* ST. HILAIRE) UTILIZADA NO PREPARO DO CHIMARRÃO COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE DOIS VIZINHOS - PR

por

RAFAELA MENDES FERRON

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 06 de JUNHO de 2017 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Marcela Tostes Frata
Prof.(a) Orientador(a)
UTFPR – Dois Vizinhos

Maria Giovana Binder Pagnoncelli
Membro titular
UTFPR – Dois Vizinhos

Milene Oliveira Pereira Bicudo
Membro titular
UTFPR – Dois Vizinhos

Angélica Signor Mendes
Responsável pelos Trabalhos
de Conclusão de Curso

Lucas da Silva Domingues
Coordenador(a) do Curso
UTFPR – Dois Vizinhos

RESUMO

FERRON, Rafaela Mendes. Avaliação microbiológica de erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hilaire) utilizada no preparo do chimarrão comercializada no município de Dois Vizinhos – PR. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Agronomia) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR. Dois Vizinhos, 2017.

A erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hil) é uma planta nativa da América do Sul e muito consumida em países como Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai. No Brasil, a principal região consumidora de erva-mate é a região sul, principalmente na forma de chimarrão, tererê e chá mate. Alguns fatores como a forma de manipulação e o local de armazenamento da erva-mate, podem colaborar para o aparecimento e proliferação de bactérias e fungos, que podem ser prejudiciais à saúde humana. As análises microbiológicas de erva-mate tiveram como objetivo averiguar se seis marcas comercializadas no município de Dois Vizinhos, PR, estavam apropriadas para consumo, por meio da contagem total de aeróbios mesófilos, coliformes totais e termotolerantes, e bolores e leveduras. Os resultados obtidos foram comparados com a legislação brasileira e com recomendações da Organização Mundial da Saúde para esse tipo de produto. Os resultados revelaram que todas as marcas analisadas estão em conformidade com os padrões previstos pela legislação e assemelharam-se aos da literatura. Assim, pode-se concluir que todas as marcas de erva-mate analisadas estão apropriadas para o consumo humano dentre os parâmetros avaliados.

Palavras-chave: Análise Microbiológica. Coliformes. Bolores e leveduras. Aeróbios mesófilos. Erva-mate. Segurança alimentar.

ABSTRACT

FERRON, Rafaela Mendes. Microbiological evaluation of yerba mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hilaire) used in the preparation of the maté commercialized in the municipality of Dois Vizinhos – PR. Course Conclusion of Work (Bachelor of agronomy). Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

Yerba maté (*Ilex Paraguariensis* St. Hil) is a plant native from South America and widely consumed in countries like Argetina, Brazil, Paraguay and Uruguay. In Brazil, yerba mate is most consumed in the South region, mainly in the form of mate, tererê and maté tea. Some bioactive compounds present in yerba mate can bring various health benefits. On the other hand, some factors such as the high temperature of consumption of the mate, may be associated with the incidence of diseases like carcinomas. Another possible problem is the storage location of yerba mate, which contributes to the appearance and proliferation of fungi and bacteria, which can be harmful to human health. The objective of the microbiological analyzes was to determine if 6 brands that are commercialized in the city of Dois Vizinhos -PR, are suitable for consumption, by counting the total of mesophyll aerobes, total coliforms and thermotolerant, moulds and yeasts. The results obtained were compared with the current legislation, Resolution RDC No. 12 of January 2, 2001, of the National Health Surveillance Agency (ANVISA) of the World Health Organization (WHO) for this type of product. The results showed that all the analyzed brands are in compliance with the standards established by the legislation and have resembled the literature. Thus, it can be concluded that all brands of yerba mate analyzed are suitable for human consumption.

Keywords: Microbiological analysis. Coliform. Moulds and yeasts. Mesophyll Aerobes. Yerba maté. Food Security.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVOS	4
2.1. OBJETIVO GERAL	4
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4. MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1. Contagem de aeróbios mesófilos	10
4.2. Contagem de bolores e leveduras	10
4.3. Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes	11
4.3.1. Prova presuntiva	11
4.3.2. Prova Confirmativa de coliformes totais	11
4.3.3. Prova confirmativa de coliformes termotolerantes	11
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
6. CONCLUSÃO	16
7. REFERÊNCIAS	17

1. INTRODUÇÃO

Ilex Paraguariensis St. Hil, conhecida popularmente como erva-mate, foi descrita pela primeira vez pelo naturalista francês August de Saint Hilaire, no Paraguai, por isso a denominação *Paraguariensis*. A erva-mate é uma planta perene, nativa da América do Sul, com características de arvoretas até árvores, com altura que pode chegar de 10 a 15 metros, sendo encontrada e consumida principalmente em países como Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai (DANIEL, 2009). O Brasil possui a segunda maior produção mundial, concentrada, principalmente, nos Estados da região Sul.

A parte utilizada da planta são as folhas e ramos, sendo consumidas principalmente na forma de chimarrão, chá e tererê. Cada uma das bebidas são diferenciadas pela forma de preparo, sendo chimarrão a infusão parcial da erva-mate com água quente, o tererê a infusão com água fria e chá mate infusão total de erva-mate em água quente (BASTOS et al., 2007; SILVEIRA et al., 2016).

Existem diversas pesquisas que avaliam o potencial farmacológico da erva-mate na saúde humana, servindo de alternativa no tratamento de algumas doenças. Esse potencial farmacológico deriva-se de compostos bioativos presentes nos ramos e folhas da planta (OLIVEIRA, 2008; BASTOS; TORRES, 2003).

No entanto, existem pesquisas em relação a possíveis problemas que podem ser causados à saúde, principalmente relacionados ao consumo de chimarrão em elevadas temperaturas, podendo favorecer a ocorrência de carcinomas (SAIDELLES et al., 2014; BARROS et al., 2000). Além disso, pode haver a presença de fungos e/ou bactérias que podem produzir micotoxinas, e também podem ser danosos à saúde, tanto do consumidor final, quanto daquele que trabalha no processamento, já que na maioria das vezes as condições de armazenamento favorecem o crescimento e a proliferação desses microrganismos (RENOVATTO; AGOSTINI, 2008).

Desta forma, é importante que haja avaliação das condições microbiológicas de erva-mate, assim como de cuias e bombas, já que na literatura não são encontrados estudos sobre esse tipo de contaminação e a legislação não contempla padrões para alguns fungos filamentosos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a condição microbiológica de erva-mate comercializadas em Dois Vizinhos - PR, a fim de verificar se estão seguras para o consumo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar contagem total de aeróbios mesófilos, bolores e leveduras, e de coliformes totais e termotolerantes na erva-mate comercial utilizada no preparo do chimarrão;
- Comparar resultados com a legislação brasileira e da Organização Mundial da Saúde (OMS);
- Verificar se a erva-mate comercializada no município de Dois Vizinhos, PR, encontra-se dentro dos parâmetros microbiológicos previstos pela literatura;
- Verificar a possibilidade de riscos para a saúde da população adepta ao consumo do mate, em adquirir doenças transmissíveis através da ingestão da bebida.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) é uma planta, pertencente à família das aquifoliáceas, nativa da América do Sul, encontrada e consumida principalmente no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. Antes mesmo da descoberta do mundo novo, pelos europeus, os índios nativos da América do Sul, já faziam o consumo da planta (BASTOS et al., 2007).

Segundo o Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM, 2016), a Argentina é o maior produtor mundial de erva-mate, com produção de 810 mil toneladas de folha verde no ano de 2015. O Brasil é o segundo maior produtor, tendo produzido 602 mil toneladas de folha verde em áreas de cultivo comercial, no ano de 2014 (IBGE, 2014). Entre os países produtores de erva-mate está o Paraguai, com produção de 92 mil toneladas em 2014 (MAG, 2014).

A produção e consumo de erva-mate no Brasil são feitos principalmente na região Sul, e com menor representatividade na região centro-oeste. Na região Sul, onde a espécie é considerada nativa, pode-se destacar o Rio Grande do Sul que é o maior produtor nacional da folha verde de erva-mate, seguido pelos Estados do Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul. O estado gaúcho é responsável por cerca de 60% da produção industrial nacional, os quais são produzidos por cinco polos erva-mateiros (OLIVEIRA; WAQUIL, 2015). Além do uso e comercialização interna da erva-mate, o Brasil exporta grandes quantidades de erva para a Alemanha (BASTOS; TORRES, 2003).

As folhas e ramos secos da planta são utilizados para preparo de infusões como o chimarrão, tererê e chá mate. O chimarrão é caracterizado pelo preparo da erva-mate parcialmente imersa em água quente em um recipiente típico, geralmente feito de cabaça ou porongo, chamado de cuia. Já o tererê é preparado em cuia, copo comum ou outros recipientes, e o que o difere do chimarrão é a temperatura da água, o qual é preparado com água fria. Ambas as bebidas são sugadas através de uma espécie de canudo de metal achatado, com a extremidade inferior perfurada com pequenos orifícios, que servem como filtro para passagem do líquido, conhecido como bomba. O chá mate, geralmente comercializado em sachês, é preparado pela infusão total de folhas de erva-mate torrada, em água quente (BASTOS et al., 2007; SILVEIRA et al., 2016).

O chimarrão é a principal forma de consumo da erva-mate, especialmente na região Sul, o qual integra os costumes regionais há séculos, como um dos símbolos da cultura regional, o qual o hábito de “matear” simboliza hospitalidade, tradição e saúde (MACCARI JUNIOR, 2005).

Uma das principais características do chimarrão é o sabor, que pode ser considerado amargo. Essa característica pode ser atribuída pela presença de diferentes componentes químicos. O amargor, assim como o teor de sólidos solúveis, diminuem conforme o número de extrações durante o consumo da infusão em cuias aumenta (SANTOS, 2004).

Segundo Daniel (2009), as etapas de processamento ou beneficiamento de erva-mate destinada para chimarrão ou tererê podem ser definidas em duas fases: as etapas relacionadas à produção, que envolvem a colheita, alimentação e sapeco, desidratação e fragmentação; e as etapas relacionadas à indústria, as quais englobam operações de classificação, armazenamento, moagem, homogeneização e empacotamento.

Para Fortes et al. (2014), além de consumida principalmente na forma de chimarrão e chá, a erva-mate pode ser utilizada como ingrediente na produção de outras bebidas, como sucos e refrigerantes, doces, corante e conservante natural de alimentos. Devido às suas propriedades químicas, as folhas também podem ser utilizadas na indústria como produtos de higiene, cosméticos e medicamentos.

A medicina popular e herboristas recomendam a utilização para diversos problemas de saúde, tais como artrite, dor de cabeça, constipação, reumatismo, hemorróidas, obesidade, fadiga, retenção de líquido, hipertensão, digestão lenta e desordens hepáticas (BASTOS & TORRES, 2003).

Em relação às propriedades farmacológicas, as bebidas a base de erva-mate podem ser fonte de diversos compostos bioativos, como as saponinas, metilxantinas e compostos fenólicos, dos quais se pode encontrar em maiores proporções principalmente os ácidos clorogênicos, uma família de compostos formados por isômeros e ésteres do ácido cafeico e do ácido quínico. Esses compostos apresentam vários efeitos benéficos à saúde humana, como a ação antioxidante dos fenólicos, estimulante das metilxantinas, e as saponinas que atuam no retardo da absorção de gordura e interferem no metabolismo do colesterol (OLIVEIRA, 2008). A bebida também possui efeito diurético, facilita a digestão, proporciona bem-estar e favorece o emagrecimento (SAIDELLES et al., 2014).

A concentração dos compostos bioativos presentes na erva-mate pode variar de acordo com alguns fatores relacionados ao preparo (relação massa de erva/volume de água e tempo e temperatura de infusão), relacionados à ocorrência natural (variedade, clima, manejo e idade da planta) e possível presença de adulterantes como outras espécies de *Ilex* (BASTOS;TORRES, 2003).

Por outro lado, estudos e pesquisas buscam identificar se há relação entre a elevada quantidade destes compostos e a temperatura da água (acima de 60°C) do consumo do mate com a alta incidência de carcinoma epidermóide de esôfago, em locais onde a bebida é tradicionalmente mais consumida (BARROS et al., 2000; BASTOS; TORRES, 2003).

Pesquisas avaliando indivíduos que consumiram chimarrão em diferentes temperaturas (alta temperatura, morna e quente), mostram que aqueles que ingeriram a bebida em maior temperatura apresentaram maior suscetibilidade de desenvolver câncer de esôfago, principalmente se associado ao consumo em grandes quantidades (SAIDELLES et al., 2014). No entanto, outros fatores, como o consumo alcoólico e o tabagismo, sejam maiores influentes na ocorrência do câncer de esôfago que apenas o consumo de mate, mas quando associados têm propensão maior a esse tipo de carcinoma (SAIDELLES et al., 2014; BARROS et al., 2000).

Após a colheita, a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é armazenada em grandes quantidades em depósitos, galpões ou armazéns, podendo colaborar com o desenvolvimento e crescimento de diversos microrganismos, que podem se proliferar através do ar, causando danos à saúde dos trabalhadores e dos consumidores. Principalmente em regiões de clima tropical, há altos teores de micotoxinas em alimentos, pelas altas proliferações de fungos em produtos agrícolas (RENOVATTO; AGOSTINI, 2008).

Para comercialização do produto para ser consumido em infusão, *in natura*, o mesmo deve ser livre de presença de tecidos deteriorados devido à causas parasíticas ou não parasíticas, miscelâneas ou qualquer outra matéria estranha que possa ser característica de mau armazenamento, estocagem ou distribuição (BRAGHINI et al., 2014).

De acordo com a Resolução RDC nº 12/01, estabelecida pela ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária), que regulamenta os padrões microbiológicos sanitários, determina para produtos alimentícios consumidos após a

adição de líquido com emprego de calor, a ausência de *Salmonella spp.* em 25 gramas do produto, e para contagem de Coliformes a 45°C, tolerância máxima de 10³ NMP/g do produto (BRASIL, 2001). No entanto, não são determinados valores referentes a fungos (bolors e leveduras) em alimentos consumidos após a adição de água (como chás), os quais algumas espécies podem ser fator preocupante relacionado à saúde humana (CARVALHO et al., 2009).

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

Segundo Borges et al. (2002), em países da Europa e Estados Unidos, os padrões para substâncias derivadas de fungos em alimentos de consumo humano são muito rígidos. No Brasil, são apenas utilizados padrões para alguns alimentos como amendoim e derivados, leite e produtos lácteos, cereais, sucos e polpas de uva e maçã, nozes e castanhas, entre outros (BRASIL, 2011).

A presença de coliformes em alimentos é utilizada como parâmetro microbiológico para avaliação de condições higiênico-sanitárias de alimentos e de água. Esse grupo de bactérias além de constituir o trato digestório de animais de sangue quente, também pode ser encontrado em outros ambientes, como em vegetais e no solo. As doenças causadas por esse grupo são principalmente doenças diarréicas (SOUSA, 2006).

Algumas espécies de fungos filamentosos são capazes de produzir substâncias metabólicas secundárias, designadas micotoxinas, as quais podem causar intoxicações chamadas de micotoxicose. A micotoxicose pode causar diversos danos à saúde humana ou de animais, afetando principalmente rins, fígado, cérebro, sistema nervoso e músculos, podendo causar problemas imunológicos, ação carcinogênica e, até mesmo levar à morte. Outro fato importante em relação às micotoxinas é que, mesmo após o desaparecimento do fungo, elas ainda podem estar presentes no alimento e possuem resistência térmica (BORGES et al., 2002; CARVALHO et al., 2009).

Três grandes grupos dividem as micotoxinas mais importantes, são eles: 1) grupo das aflatoxinas, produzidas pelo gênero *Aspergillus*; 2) fusariotoxinas, produzidas pelo gênero *Fusarium* e; 3) ocratoxinas, produzidas pelo *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus alutaceus*, entre outros (BORGES et al., 2002).

Em geral, o material utilizado nas cuias de chimarrão é oriundo de cabaça ou porongo, e até mesmo madeira, que são de difícil secagem, podendo favorecer o crescimento e a proliferação de fungos. Ademais, as bombas também podem ser fonte de contaminação, por fungos e/ou bactérias.

Segundo Sampaio (2004), independente do tipo material utilizado na bomba de chimarrão, o ato de compartilhá-la entre os consumidores é uma das causas do alto índice de contágio de doenças. A água quente utilizada no chimarrão, não impede que a bomba sirva de meio de transporte para microrganismos, mesmo que o bocal seja de ouro, como crêem as gerações mais antigas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas amostras de seis marcas comerciais de erva-mate comercializadas no município de Dois Vizinhos-PR, sendo utilizadas duas embalagens de cada marca, do mesmo lote, em duplicata. Foi efetuada a contagem total de bolores e leveduras, aeróbios mesófilos e coliformes totais e termotolerantes de acordo com métodos propostos pela IN nº 62 de 26 de Agosto de 2006: “Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água” (BRASIL, 2003).

4.1. Contagem de aeróbios mesófilos

Para o preparo das amostras, foram pesados $25 \pm 0,2$ g de erva-mate, adicionados a 225 mL de solução salina 0,1%, homogeneizada e utilizadas 3 diluições diferentes (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}).

Em cada placa foram semeados 1mL da diluição em placas de Petri estéreis, adicionando logo após cerca de 15 a 20 mL de PCA fundido e mantido em banho-maria a 46-48° C, e solidificado em superfície plana. As placas foram incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas.

A leitura foi realizada em placas que continham entre 25 e 250 colônias.

4.2. Contagem de bolores e leveduras

Para o preparo das amostras, foram pesados $25 \pm 0,2$ g de erva-mate, adicionados a 225 mL de solução salina 0,1%, homogeneizada e utilizadas 3 diluições diferentes (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}).

O ágar batata glicose foi fundido e mantido em banho-maria até 46-48° C. O meio foi acidificado até pH 3,5, por meio de adição de solução de ácido tartárico a 10%, que foi vertido em placas e solidificado em superfície plana.

Em cada placa foi adicionado 0,1 mL da dissolução da amostra na superfície seca de ágar batata glicose acidificado. O inóculo foi espalhado por toda superfície do meio com auxílio de alça de Drigalski, até completa absorção. As placas foram incubadas, sem inverter, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por 7 dias, em incubadora de B.O.D.

A leitura foi realizada em placas que continham de 15 a 150 colônias.

4.3. Contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes

Para o preparo das amostras, foram pesados $25 \pm 0,2$ g de erva-mate, adicionados a 225 mL de solução salina 0,1%, homogeneizada e utilizadas 3 diluições diferentes (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}).

4.3.1. Prova presuntiva

Em cada placa foi adicionado 1 mL da diluição em placas de Petri esterilizadas e, a cada placa foi adicionado cerca de 1,5 mL de Ágar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile (VRBA), previamente fundido e mantido a $47^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ em banho-maria. Depois de homogeneizadas, as placas foram deixadas em repouso até total solidificação do meio. Após a solidificação do meio, sobre cada placa foi adicionado cerca de 10 mL de VRBA previamente fundido e mantido a $47^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ em banho-maria, formando uma segunda camada de meio.

As placas foram incubadas em posição invertida, após a completa solidificação do meio, em temperatura de $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

Para leitura, foram selecionadas placas que continham entre 15 e 150 colônias colônias que apresentarem morfologia típica de coliformes, ou seja, colônias róseas; com 0,5 a 2 mm de diâmetro rodeadas ou não por uma zona de precipitação da bile presente no meio. As colônias típicas e atípicas foram separadas e submetidas 3 colônias, de cada uma às provas confirmativas.

4.3.2. Prova Confirmativa de coliformes totais

Foi inoculada, cada uma das colônias típicas e atípicas selecionadas, em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose. Os tubos de ensaio foram incubados a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas.

A leitura para confirmação da presença de coliformes totais foi através da visualização da formação de gás ou efervescência quando agitado gentilmente.

4.3.3. Prova confirmativa de coliformes termotolerantes

Foram inoculadas as culturas suspeitas de coliformes termotolerantes em tubos contendo caldo Escherichia coli (EC). Os tubos foram incubados a $45 \pm 0,2$ °C por 24 a 48 horas em banho-maria com agitação.

A leitura para confirmação da presença de coliformes termotolerantes foi por meio da visualização da formação de gás ou efervescência quando agitado gentilmente.

O arranjo de número de tubos positivos das 3 diluições foram transpostos para tabelas estatísticas (Anexo 1), que informam o NMP para as diferentes combinações de tubos positivos e que também incluem os limites de confiança dos números mais prováveis dos microrganismos pesquisados em função da tabela em questão.

Todas as análises foram executadas no laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos e os resultados foram comparados com a legislação brasileira (BRASIL, 2001) e artigos científicos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A legislação brasileira atribui somente valores referentes à *Salmonella ssp.* e coliformes a 45°C (termotolerantes). Embora não estabelecidos valores para bolores e leveduras, esse tipo de análise pode ser considerada muito importante, pelo fato de algumas espécies produzirem micotoxinas (CARVALHO et al., 2009).

De acordo com os resultados obtidos, apenas três marcas apresentaram resultados positivos para coliformes, que variaram de 0,36 a 2,3 NMP/g para coliformes totais e 0,92 a 2,3 NMP/g para coliformes termotolerantes (Tabela 1). Segundo a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, os valores para coliformes a 45°C devem ser inferiores a 1×10^3 NMP/g (BRASIL, 2001). Considerando os padrões microbiológicos, todas as marcas comerciais de erva-mate apresentam resultados satisfatórios e abaixo do limite para coliformes.

Tabela 1 - Resultados das análises microbiológicas de erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hilare) comercializadas em Dois Vizinhos - PR

Amostra	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	Bactérias Aeróbias Mesófilas (UFC/g)	Bolores e Leveduras (UFC/g)
1	2,3	0,92	$2,5 \times 10^4$ est.	$5,3 \times 10^1$
2	0	0	$3,2 \times 10^3$	0
3	0	0	$4,4 \times 10^2$	0
4	0,36	2,3	$3,4 \times 10^2$ est.	0
5	0	0	$2,5 \times 10^2$	$8,3 \times 10^1$
6	0,36	1,5	$2,5 \times 10^3$ est.	$1,6 \times 10^2$

est.: contagem estimativa

Fonte: Ferron (2017).

A incorreta manipulação e falta de aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), podem resultar na presença de coliformes totais e termotolerantes, indicando possíveis contaminações de origem fecal e, conseqüentemente, risco à saúde dos consumidores (MOURA et al., 2013).

Rodrigues & De Lima (2015), obtiveram resultados acima do permitido pela legislação para coliformes termotolerantes, aos quais atribuíram como possíveis

fontes de contaminação a água utilizada em irrigação e/ou, falhas higiênicas ou manipulação inadequada no processamento e armazenamento do produto.

Moura et al. (2013), verificaram a presença coliformes totais e termotolerantes em 14, das 15 amostras de erva-mate analisadas, no entanto, todos os resultados encontram-se em conformidade com a legislação brasileira (BRASIL, 2001). Os valores positivos variaram de $< 1,8$ a $9,3 \times 10^1$ NMP/g para coliformes totais e $< 1,8$ a 2×10^1 para coliformes termotolerantes.

Visto que a legislação prevê contagem apenas para coliformes termotolerantes, os coliformes totais não apresentam, necessariamente, características de contaminação fecal, já que as bactérias desse grupo não são exclusivamente de origem entérica, no entanto, são usadas como parâmetro para avaliação das condições higiênicas, pós sanitização ou pós processamento, ineficiência em tratamentos térmicos ou multiplicação durante processamento e estocagem (OLIVEIRA et al., 2013).

A contagem de aeróbios mesófilos das marcas analisadas variaram de $2,5 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^4$. A Organização Mundial da Saúde, estabelece o limite de 1×10^7 UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas, considerando-se este parâmetro todas as marcas apresentaram resultados satisfatórios e dentro dos padrões microbiológicos da legislação internacional, visto que a legislação brasileira não contempla padrões para esses microrganismos (OMS, 1998).

Barboza et al., (2006), observaram a presença de bactérias aeróbias mesófilas na erva-mate em diferentes etapas do processamento, variando de < 10 a $5,0 \times 10^1$, sendo que a contagem também atendeu a legislação vigente, no entanto, menores que os resultados de Moura et al., (2013), que variaram de $< 1,0 \times 10^2$ a 7×10^4 , aos quais se assemelharam com encontrados na Tabela 1.

Os resultados encontrados também se assemelharam aos obtidos por Renovatto & Agostini (2008), que realizaram análises de erva-mate destinada ao consumo de chimarrão e tererê, sendo que a contagem para o segundo tipo de consumo deve ser menor, pelo fato de ser consumido gelado, ou seja, não sendo empregado uso de alta temperatura que pode eliminar parte das bactérias aeróbias mesófilas. A contaminação por esse tipo de microrganismo pode estar relacionada não somente às falhas higiênicas durante manejo, secagem e armazenamento do

produto, mas também pelas bactérias oriundas do solo, pertencentes à flora de produtos naturais.

Pôde-se verificar na Tabela 1, que todas as marcas apresentaram contagem de bolores e leveduras variando de $5,3 \times 10^1$ a $1,6 \times 10^2$ UFC/g, portanto, dentro do padrão estabelecido pela OMS, que deve ser inferior a 1×10^4 UFC/g (OMS, 1998). Entretanto, a contaminação fúngica pode levar à produção de micotoxinas, que são termorresistentes e, dessa forma, não são destruídas no preparo do chimarrão. Resultados obtidos por Horiński et al., (2012) variaram de 2×10^2 a $3,5 \times 10^3$ UFC/g, e os obtidos por Renovatto & Agostini (2008) de <300 a $5,1 \times 10^2$ UFC/g, também atenderam os valores estabelecidos pela OMS, semelhantes aos expressos na Tabela 1.

Albieiro (2014), analisou o crescimento de microrganismos em folhas de erva-mate *in natura* e após processamento e identificou a presença de diferentes gêneros de fungos, sendo que, na erva-mate processada houve menor crescimento e menor diversidade de leveduras. Isso pode ocorrer devido às folhas *in natura* estarem em contato direto com ambiente externo onde há maiores variações de umidade e temperatura.

Borges et al., (2002), identificaram em erva-mate, a presença de fungos do gênero *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.*, os quais são conhecidos por atuarem na deterioração de alimentos e, produzirem micotoxinas que podem representar riscos à saúde.

6. CONCLUSÃO

Verificou-se a presença de coliformes totais e termotolerantes, aeróbios mesófilos e bolores e leveduras em algumas amostras de erva-mate, porém todas as marcas atenderam os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira e pela Organização Mundial da Saúde. Porém, a presença de tais microrganismos pode evidenciar falhas de Boas Práticas de Fabricação (BPF).

É de grande importância realizar os procedimentos de BPF durante o processamento da erva-mate, a fim de evitar contaminação e possíveis riscos à saúde.

Faz-se necessário que a legislação brasileira atribua padrões de contaminação para outros microrganismos, como aeróbios mesófilos e, principalmente, bolores e leveduras, os quais podem produzir micotoxinas, representando ameaças à saúde do consumidor.

7. REFERÊNCIAS

- ALBIERO, G. Qualidade sanitária e diversidade de bactérias e leveduras cultiváveis em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) processada e *in natura*. [Dissertação de mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.
- BARBOZA, L.M.V.; WASZCZYNSKY, J.N.; FREITAS, R. J. S. Avaliação microbiológica de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Rev Inst Adolfo Lutz, 65(2):123-126, 2006.
- BARROS, S. G. S. et al. Mate chimarrão é consumido em alta temperatura por população sob risco para o carcinoma epidermóide de esôfago. Arquivos de Gastroenterologia, v. 37, n. 1, p. 25-30, 2000.
- BASTOS, D.H.M.; TORRES, E.A.F.S. Maté (*Ilex paraguariensis*) beverages and public health. Nutrir e: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP. v.26, p. 77-89, dez., 2003.
- BASTOS, D. H. M.; OLIVEIRA, D. M.; MATSUMOTO, R. L. T.; CARVALHO, P.O.; RIBEIRO, M. L. Yerba mate: Pharmacological Properties, Research and Biotechnology. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology. n. 1, p. 37-46, 2007.
- 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.
- BRAGHINI, F.; CARLI, C. G.; BONSAGLIA, B.; SILVEIRA JUNIOR, J. F. S.; OLIVEIRA, D. F.; TRAMUJAS, J.; TONIAL, I. B. Composição físico-química de erva-mate, antes e após simulação do Chimarrão. PESQ. AGROP. GAÚCHA, Porto Alegre, v. 20, ns. 1/2, p. 7-15, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, Brasília, 28 de agosto de 2003.
- BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Resolução nº 7 de 18 de fevereiro de 2011. Limites Máximos Tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União; Brasília, 2011.
Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html>. Acesso em: 03/10/2016.
- 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.

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.

DANIEL, O.; Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial. Dourados, MS : UFGD ; UEMS, 2009. 288p.

FORTES, J. P.; SANTOS, C. O.; SILVEIRA, M. L. R.; RICHARDS, N. S. P. S.; SAUTTER, C. K. Avaliação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de ingredientes para elaboração de geleias de erva-mate (*illex paraguariensis* st-hil) com gengibre (*Zingiber officinale*). XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química 2014 , Florianópolis SC. Engenharia e Tecnologia de Alimentos, 2014.

HORIANSKI, M. A.; CASTRILLO, M. L.; TAYAGUI, A. B.; JERKE, G. Calidad microbiológica de yerba mate canchada. Revista de Ciencia y Tecnología, 2012.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Censo agropecuário, 2014. Disponível em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u2=34>>. Acesso em: 18/09/2016.

INYM (INTITUTO NACIONAL DE LA YERBA MATE); Informe del Sector Yerbatero, Julio de 2016.

MACCARI JUNIOR, A. Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Faculdade de Engenharia Agrícola; Universidade Estadual de Campinas – SP, 2005.

MAG (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA); Dirección de Censo y Estadísticas Agropecuarias; Síntesis Estadísticas, Producción Agropecuaria; AÑO AGRICOLA 2013/2014, 2014.

MOURA, T.C; MACHADO, M.A.; GUESSER, D.F.; ISAKA, G.V. Avaliação da qualidade microbiológica da erva-mate chimarrão produzida e comercializada na cidade de Canoinhas-SC. Seminário de Pesquisa, Extensão e Inovação do IFSC – SEPEI; 2013.

OLIVEIRA, D.M. Influência da ingestão de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre parâmetros relacionados ao diabetes mellitus e metabolismo de glicose em ratos Wistar. São Paulo, 78p. Dissertação (Mestrado em Saúde pública). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, E.S.; MARQUES, L.J.P.; SANTOS E.R.S.; GALDINO, R.M.N. Pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em águas minerais envasadas, comercializadas na cidade do Recife-PE. XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX; 2013 dez. 9-13; Recife; PE; 2013.

OLIVEIRA, S. V.; WAQUIL, P. D. Dynamics of production and commercialization of yerba mate in Rio Grande do Sul, Brazil. Ciência Rural. v.45, n.4, p. 750, 2015.

OMS. Organização Mundial Da Saúde. (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO). Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials. Geneva: WHO, 1998. 115 p.

RENOVATTO, Y. P.; AGOSTINI, J. Qualidade microbiológica e físico química de amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) comercializadas em Dourados, MS. Interbio v.2 n.2, p. 12 - 20, 2008.

RODRIGUES, J. D.; DE LIMA, C. P. Análise microbiológica e físico-química de amostras secas de camomila, *matricaria recutita* (L.), asteraceae, comercializadas em Curitiba, Paraná. Saúde, v. 2, n. 14, p. 11-20, 2015.

SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHNER, R.; SANTOS, N. Z.; STUMM, E. M. F.; RECK, L.; MACHADO, R. S. Caracterização de indivíduos da Fronteira Oeste/RS (Brasil) que possuem o hábito de tomar chimarrão em temperatura elevada. Ciência e Natura. v. 36, n. 3, 2014, p.310-318.

SAMPAIO, D. G. ; MARTINS, D. B. ; MARCHIORO, S. B. ; VARGAS, A.C. ; MALLMANN, C. A. ; FLORES, E. F. . Análise quantitativa da contaminação bacteriana no bucal de bombas de chimarrão. In: XVI Congresso Estadual de Medicina Veterinária, 2004, Passo Fundo RS. Ciencia e tecnologia médico-veterinária: do bem-estar animal à segurança alimentar, 2004.

SANTOS, K.C.; Estabilidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) em embalagens plásticas [Dissertação de mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 127 pp. 2004.

SILVEIRA, T. F.; MEINHARTA, A. D.; SOUZA, T. C. L.; FILHO, J. T.; GODOY, H. T. Phenolic compounds from yerba mate based beverages – A multivariate optimisation. Food Chemistry. v. 190, n. 1, p. 1159-1167, 2016.

SOUSA, C. P. . Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. Revista APS, v.9, n.1, p. 83-88, 2006.

ANEXOS

Tabela de NMP

Tabela 1. Número Mais Provável por grama ou mL, para séries de 3 tubos com inóculos de 0,1, 0,01 e 0,001 g ou mL e respectivos intervalos de confiança 95%.

Número de Tubos Positivos			NMP/g ou mL	Intervalo Confiança (95%)	
0,1	0,01	0,001		Inferior	Superior
0	0	0	<3,0	.-	9,5
0	0	1	3,0	0,15	9,6
0	1	0	3,0	0,15	11
0	1	1	6,1	1,2	18
0	2	0	6,2	1,2	18
0	3	0	9,4	3,6	38
1	0	0	3,6	0,17	18
1	0	1	7,2	1,3	18
1	0	2	11	3,6	38
1	1	0	7,4	1,3	20
1	1	1	11	3,6	38
1	2	0	11	3,6	42
1	2	1	15	4,5	42
1	3	0	16	4,5	42
2	0	0	9,2	1,4	38
2	0	1	14	3,6	42
2	0	2	20	4,5	42
2	1	0	15	3,7	42
2	1	1	20	4,5	42
2	1	2	27	8,7	94
2	2	0	21	4,5	42
2	2	1	28	8,7	94
2	2	2	35	8,7	94
2	3	0	29	8,7	94
2	3	1	36	8,7	94
3	0	0	23	4,6	94
3	0	1	38	8,7	110
3	0	2	64	17	180
3	1	0	43	9	180
3	1	1	75	17	200
3	1	2	120	37	420
3	1	3	160	40	420

Fonte: BRASIL (2003).