

# CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM AMOSTRAS INDUSTRIALIZADAS DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*) DO COMÉRCIO FORMAL DE CURRAIS NOVOS, RN

**Francisco Angelo Gurgel da ROCHA (1); Fábio Gonçalves Macêdo de MEDEIROS (2); Leandro Ícaro Santos DANTAS (3); Luis Otávio de ARAÚJO (4)**

- (1) IFRN – Campus Currais Novos, rua Manoel Lopes Filho, n.º 733, Bairro Valfredo Galvão Currais Novos / RN - CEP: 59380-000, e-mail: [angelo.gurgel@ifrn.edu.br](mailto:angelo.gurgel@ifrn.edu.br)
- (2) IFRN – Campus Currais Novos, rua Manoel Lopes Filho, n.º 733, Bairro Valfredo Galvão Currais Novos / RN - CEP: 59380-000, e-mail: [fabio.macedo@live.com](mailto:fabio.macedo@live.com)
- (3) IFRN – Campus Currais Novos, rua Manoel Lopes Filho, n.º 733, Bairro Valfredo Galvão Currais Novos / RN - CEP: 59380-000, e-mail: [leandroicarosantos@hotmail.com](mailto:leandroicarosantos@hotmail.com)
- (4) IFRN – Campus Currais Novos, rua Manoel Lopes Filho, n.º 733, Bairro Valfredo Galvão Currais Novos / RN - CEP: 59380-000, e-mail: [luisotavio93@yahoo.com](mailto:luisotavio93@yahoo.com)

## RESUMO

Graças ao seu baixo custo e atividades biológicas comprovadas, as plantas medicinais despertam interesses de todas as classes sociais. Diversas empresas ao longo das últimas décadas tem se especializado na industrialização de plantas medicinais agregando valor a esse produto e diminuindo os riscos de contaminação microbiológica. Foi realizada uma pesquisa descritiva que objetivou obtenção do perfil microbiológico de amostras de chá verde (*Camellia sinensis*), comercializadas sob forma de sachês, no município de Currais Novos, RN. Foram quantificados aeróbios mesófilos (Ágar Padrão de Contagem,  $35 \pm 1^\circ\text{C}/24\text{h}$ ), coliformes totais/*Escherichia coli* (teste presuntivo: Caldo LST,  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}/24-48 \pm 2$ ; CT: Caldo VB,  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}/24-48 \pm 2$ ; *E. coli*: Caldo EC,  $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}/24 \pm 2\text{h}$ ; Ágar L-EMB,  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}/24 \pm 2\text{h}$ ), bolores e leveduras (Ágar Batata Dextrosado Acidificado,  $25 \pm 1^\circ\text{C}/5$  dias) e *Staphylococcus aureus* (Ágar Baird-Parker,  $35-37^\circ\text{C}/24 \pm 2\text{h}$ ). Microrganismos do grupo dos coliformes totais e termotolerantes/*E.coli* não foram detectados nas amostras. 67% das amostras apresentaram contaminação por bolores e leveduras e 100% por aeróbios mesófilos. Em 33% dos casos a contagem de bactérias mesófilas excedeu os níveis recomendados pela OMS. Os níveis de contaminação classificam o material como sanitariamente adequado ao consumo humano.

**Palavras-chave:** plantas medicinais industrializadas, bolores, *Staphylococcus aureus*, coliformes.

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais constituem recurso terapêutico de validade significativa desde os primórdios da civilização mantendo tal *status* até os dias atuais. A recomendação da Organização Mundial da Saúde no sentido de incorporar as tais recursos nos sistemas de saúde públicos (OMS, 2002) e o interesse renovado dos consumidores, tem aumentado de forma significativa o consumo desses artigos. Visto esse interesse crescente, diversas empresas ao longo das últimas décadas têm se erguido baseando-se na industrialização de partes de órgãos dessas plantas medicinais, beneficiando e comercializando-as seja nas formas de maceração, *in natura* ou, a forma mais comum, em “saches” contendo partes dessecadas prontas para o uso, apenas com a adição de água fervente, para a elaboração de chás.

Embora o processo industrial pelo qual as amostras passam seja rigoroso, há ainda vários fatores que podem resultar em contaminação microbiológica variável do produto final. Inadequações na qualidade da matéria-prima, no processo produtivo, transporte, armazenamento e comercialização, podem permitir a contaminação/proliferação microbiana indesejável, podendo resultar em um produto de qualidade microbiológica inferior, o que pode resultar em risco de gravidade variável à saúde coletiva. O presente trabalho objetivou efetuar o diagnóstico da qualidade microbiológica de amostras de chá verde (*Camellia sinensis*) comercializadas na forma de “saches” nos supermercados do município de Currais Novos, estado do Rio Grande do Norte.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Historicamente, a utilização de plantas medicinais é um aspecto cultural relevante da cultura humana ao longo do tempo, mantendo-se com variações ao longo da história até a atualidade. Nas últimas décadas o interesse da população pelas plantas medicinais e seus infusos tem crescido exponencialmente. A orientação da Organização Mundial da Saúde no sentido de incorporar o uso de plantas medicinais aos sistemas de saúde públicos (OMS, 2002), não apenas reconhece a efetividade de sua ação como recurso terapêutico válido, como também reforça o interesse do consumidor, contribuindo para o incremento na procura por drogas vegetais e suas atividades biológicas (BUGNO *et al*, 2006). Esse interesse renovado da população em conjunto com a busca por hábitos alimentares saudáveis, mais voltados para o “natural” e sem aditivos, despertou o interesse de empresários que passaram a introduzir no mercado os chás prontos, em pó-solúvel (VULCANO *et al*, 2008) e na forma de partes de órgãos que sofreram processos de dessecação, prontos para o uso, apenas com a adição de água.

É certo que os processos industriais, em particular a dessecação do material de origem vegetal, ajudam a manter o controle da qualidade microbiológica, visto que o teor de umidade é um fator fundamental na proliferação de contaminantes (BERTÉ *et al*, 2006). Entretanto não podemos eximir os produtos industrializados de uma possível contaminação microbiológica, uma vez que a sua cadeia produtiva apresenta pontos vulneráveis, passíveis de contaminação: inadequações no cultivo, como a poluição da água de irrigação e do solo; inadequações nas condições de coleta, manipulação, secagem ou outra etapa da metodologia industrial; Outros fatores que podem alterar a qualidade microbiológica do produto de forma indesejável estão ligados à presença de condições inadequadas no transporte e estocagem do produto final. O controle de qualidade da matéria-prima ao longo da cadeia produtiva até o produto final pode, portanto, permitir a veiculação uma microbiota, por vezes patogênica (BUGNO *et al*, 2006). Dentre os microrganismos de importância médico-sanitária potencialmente presentes nas plantas medicinais disponíveis à população, sejam elas industrializadas ou não, estão as bactérias aeróbias, a *Escherichia coli*, o *Staphylococcus aureus* e fungos produtores de micotoxinas (BUGNO *et al*, 2006; ROCHA & MEDEIROS, 2009; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998<sup>a</sup>; WORLD HEALTH ORGANIZATION 1998<sup>b</sup>).

## 3 DESCRIÇÃO DA PROPOSTA

O presente trabalho objetivou a caracterização da qualidade sanitária de sachês industrializados de chá-verde (*Camellia sinensis*), comercializadas nos supermercados do município de Currais Novos, Rio Grande do Norte.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Segundo Gil (1991), foi utilizada uma abordagem descritiva.

### 4.1 Espécie Analisada e Procedimento de Coleta das Amostras

Foram coletadas em dois pontos distintos do comércio formal local, um total de seis amostras de *Camellia sinensis* (chá-verde), sendo duas amostras de cada marca, e três marcas distintas, consistindo sempre de 4 a 5 caixas de chás industrializados do tipo “chá-verde” (na forma de sachês contendo partes de órgãos vegetais dessecados), formando um peso superior a 60g. Objetivando a reprodução das condições normais de comercialização, as amostras foram adquiridas nos pontos elencados do comércio varejista formal, por membros da equipe executora à paisana, e levadas diretamente para o Laboratório de Alimentos do IFRN – Campus Currais Novos, onde foram analisadas.

### 4.2 Preparo das Amostras e Diluições Seriais

Alíquotas de 25g de cada amostra foram individualmente adicionados a 225 mL de Solução Salina Peptonada estéril, homogeneizando-se por agitação durante dois minutos. A partir desta diluição inicial ( $10^{-1}$ ), foram realizadas diluições decimais seriadas, também homogeneizadas, até  $10^{-3}$ . Quando necessário, foram realizadas diluições decimais seriadas até  $10^{-4}$  (SILVA *et al*, 2007).

### 4.3 Quantificação de Bactérias Aeróbias Mesófilas, Bolores e Leveduras

As diluições foram semeadas em duplicata pelo método *spread plate* em Placas de Petri contendo 15 mL de Agar Padrão de Contagem (PCA), no caso dos aeróbios mesófilos e Agar Batata Dextrosado Acidificado

(BDA) no caso dos bolores e leveduras. As placas foram incubadas em posição invertida a  $35\pm 1^\circ\text{C}$  por 24 h no primeiro caso e em posição normal a  $25\pm 1^\circ\text{C}$  por cinco dias no segundo.

#### 4.4 Contagem de Coliformes Totais/*Escherichia coli*.

Conforme Silva (2007) foi utilizado o Método do Número Mais Provável (NMP). Um mL de cada diluição foi inoculado em triplicata, em tubos de ensaio contendo cada 10 mL de Caldo LST e tubo Duhran invertido. O período de incubação foi de  $24/48\pm 2$  h a  $35\pm 0,5^\circ\text{C}$ . A partir dos tubos com produção de gás foram transferidas alçadas para tubos de ensaio associados a tubos Duhran, contendo 10 mL de Caldo Verde Brilhante-Bile 2% (BVB) para análise de Coliformes Totais e 10 mL de Caldo *E. coli* (EC) para a análise de Coliformes Termotolerantes/*E. coli*. Os Tubos VB foram incubados em estufa a  $35\pm 0,5^\circ\text{C}$  por  $24-48\pm 2$ h e os EC a  $44,5\pm 0,2^\circ\text{C}$  por  $24\pm 2$  h em banho-maria. A produção de gás nos tubos BVB foi considerada positiva para coliformes totais. A partir dos tubos de EC com produção de gás foram retiradas alçadas e estriadas placas de petri contendo cerca de 15 mL de Agar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB). As placas foram incubadas em posição invertida a  $35\pm 0,5^\circ\text{C}$  por  $24\pm 2$ h. Três colônias típicas de cada placa foram inoculadas para as provas bioquímicas de Indol, VM, VP e Citrato (IMViC) e motilidade em meio SIM. Foram consideradas positivas as colônias com perfil + + - - + (biotipo 1) ou - + - - + (Biotipo 2). Em ambos os casos, os resultados foram expressos em NMP/g.

#### 4.5 Quantificação de *S. aureus*.

As diluições foram semeadas em duplicata pelo método *spread plate* em placas de petri contendo 15 mL de Agar Baird-Parker, suplementado com emulsão de gema de ovo em solução salina e telurito de potássio, para evidenciar colônias típicas. As placas foram incubadas na posição invertida a  $35-37^\circ\text{C}/24\pm 2$  h.

#### 4.6 Contagem das Colônias

Após respeitados os tempos de incubação já referidos, foi efetuado o procedimento de contagem de colônias no caso da quantificação de bactérias mesófilas, bolores, leveduras e *S. aureus*. Os resultados foram expressos em UFC/g de acordo com Silva *et al* (2007).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seguem na Tabela 1 os resultados das análises realizadas com as amostras de *Camellia sinensis*:

**Tabela 1 – amostras analisadas e respectivos níveis de contaminação microbiológica**

Amostras		C. Totais (NMP/g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	Aer. Meso. (UFC/g)	Bol. e Lev. (UFC/g)	<i>S. aureus</i> (UFC/g)
Marca 01	A.	< 3,0	Ausente	$5,2 \times 10^4$	$4,3 \times 10^4$ est	$1,4 \times 10^4$ est
	B.	< 3,0	Ausente	$3,0 \times 10^2$ est	ausente	$3,0 \times 10^2$ est
Marca 02	A.	< 3,0	Ausente	$1,0 \times 10^4$ est	$5,0 \times 10^2$ est	$4,3 \times 10^3$ est
	B.	< 3,0	Ausente	$3,4 \times 10^4$ est	ausente	$1,3 \times 10^4$ est
Marca 03	A.	< 3,0	Ausente	$1,9 \times 10^6$	$9,4 \times 10^3$ est	$8,0 \times 10^2$ est
	B.	< 3,0	Ausente	$5,4 \times 10^6$	$3,6 \times 10^3$ est	$3,7 \times 10^4$

est – resultados estimados

Os resultados das análises realizadas mostram que todo o material analisado apresentou-se isento de contaminação por bactérias dos grupos dos Coliformes Totais e Termotolerantes/*Escherichia coli* (tabela 1), em concordância com os resultados obtidos por Santos *et al* (2006) quando efetuou análises similares com amostras da mesma espécie vegetal. Tal resultado pode-se dever aos processos industriais de dessecação aos

quais as amostras foram submetidas que reduzem drasticamente a disponibilidade de água do material, dificultando, assim, a sobrevivência do microrganismo nas amostras.

A presença de *Staphylococcus aureus* foi observada em 100% das amostras, indicando que esta pode ter sido exposta a condições de manipulação inadequadas, em uma ou mais fases do processo produtivo. A sobrevivência do microrganismo deve-se à sua maior resistência baixos níveis de Atividade de Água, em torno de 0,83. Entretanto, os níveis de contaminação só seriam relativamente preocupantes se fossem na ordem de  $10^6$  UFC/g, concentração na qual o microrganismo passa a produzir toxinas termoestáveis em teores tóxicos à humanos (SILVA *et al*, 2007).

Os bolores e leveduras estavam presentes em 67% das amostras podem indicar que a estocagem da matéria prima ou do produto final foi inadequada, expondo o material a condições como locais não arejados, com muita umidade e insalubres. Em relação aos aeróbios mesófilos, em 100% foram percebidas contagens incompatíveis com o tratamento sofrido pelo material e com suas condições de venda, em local fresco, limpo, embalagem intacta. Adicionalmente, em 33% das amostras o limite máximo, recomendado pela OMS, de contagem para materiais de origem vegetal para uso interno,  $10^5$  UFC/g, foi excedido (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998<sup>b</sup>). Renovatto e Agostini (2008), em estudos equivalentes sobre a qualidade microbiológica da erva-mate, obtiveram resultados semelhantes aos da presente pesquisa: baixas contagens de bolores, leveduras e bactérias mesófilas (tabela 1).

Análises realizadas por Rocha e Medeiros (2009) e por Rocha *et al* (2010) em amostras de plantas medicinais não-industrializadas disponíveis em feiras populares da mesma região, apontam altas contagens de contaminantes microbiológicos de interesse médico-sanitário. Comparativamente, as amostras de *Camellia sinensis* industrializadas apresentaram redução significativa da microbiota associada, reforçando, assim, a prerrogativa de que o processo industrial ao qual as amostras foram submetidas resulta em redução significativa da microbiota associada ao produto, diminuindo os riscos à saúde do consumidor final.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nenhuma das amostras analisadas apresentou contaminação por microrganismos do grupo dos coliformes totais ou termotolerantes/*E. coli*. Foi verificada a presença de bolores e leveduras em 67% do material. O *Staphylococcus aureus* foi observado em 17% das amostras. Ainda assim, foram percebidas contagens de bactérias aeróbias em 100% das amostras, e em 33% destas a contaminação excedeu os limites recomendados pela OMS. De acordo com os dados obtidos, o 34% das amostras foram consideradas inadequadas ao consumo humano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTÉ, K. A. S., FREITAS, R. J. S. de, RUCKER, N. G. de A., RAPACCI, M.. **Vida-de-Prateleira: Microbiologia da Erva-Mate Chimarrão**. Acta Farm. Bonaerense. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS nº 971 de 3 de maio de 2006**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Disponível em:< [http://www.saude.mg.gov.br/atos\\_normativos/legislacao-sanitaria/estabelecimentos-de-saude/terapias-alternativas/Portaria\\_971.pdf](http://www.saude.mg.gov.br/atos_normativos/legislacao-sanitaria/estabelecimentos-de-saude/terapias-alternativas/Portaria_971.pdf)>. Acesso em 30/07/2009, 15:25:53.

BUGNO, Adriana; BUZZO, A. A.; NAKAMURA, C. T.; PEREIRA, T. C.; MATOS, Dulilena de.; PINTO, T. de Jesus A.. **Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 41, n. 4, out/dez 2005.

BUGNO, Adriana; ALMODOVAR, Adriana A. B.; PEREIRA, Tatiana C.; PINTO, T. de Jesus A.; SABINO, Myrna. **Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs**. Brazilian Journal of Microbiology, v. 37, p. 47-51, 2006.

GIL, Antônio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa**. São Paulo: Atlas S. A., 1991.

GOMES, E. C., NEGRELLE, R. R. B., ELPO, E. R. S.. **Determinação da qualidade microbiológica e físico-químicas de chás de *Cymbopogon citratus* (D.D) Stapf (capim-limão)**. Acta Sci. Health Sci. vol. 30. n. 1. p. 47-54. 2008.

MELO, Jacqueline T.; CRUZEIRO, Ricardo L. A.; MACEDO, Jorge A. B.; OLIVEIRA, Murilo G.; TEXEIRA, João B. P.; BERALDO, Antonio F. C. A.; CASTRO, Oscavo F.. **Avaliação dos níveis de contaminação microbiológica ambiental das plantas medicinais da Universidade Federal de Juiz de Fora**. Brazilian Journal of Medicinal Plants, v. 2, n. 2, p. 45-50, abr 2000.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Estratégia de la OMS sobre medicina tradicional 2002 – 2005**. Genebra: OMS, 2002.

RENOVATTO, Yndilla Pedroso; AGOSTINI, Juliana da Silva. **Qualidade microbiológica e físico-química de amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) comercializadas em Dourados, MS**. Interbio. v.2. n.2. 2008. ISSN/ISBN: 1981-3775.

ROCHA, Francisco Angelo Gurgel da; MEDEIROS, Fábio Gonçalves Macêdo de. **Contaminação microbiológica em amostras de *Bauhinia forficata* Link. comercializadas no município de Currais Novos, RN**. In: IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte-Nordeste de Educação Tecnológica, Belém - PA. IV CONNEPI: IFPA, 2009.

ROCHA, Francisco Angelo Gurgel da; MEDEIROS, Fábio Gonçalves Macêdo de; SILVA, Jonas Luiz Almada da; CHAGAS, Adailma de Brito. **Microrganismos potencialmente produtores de toxinas em plantas medicinais**. In: II Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Aracajú - SE. Avanços em Tecnologia de Alimentos, 2010.

SANTOS, Jerônimo Galdino dos; AZEVEDO, Abraão; SOUZA, Solange de; QUIRINO, Max Rocha. **Isolamento de Cafeína e estudo microbiológico de Chá preto (*Camellia sinensis*) comercializado no município de Solânea - PB**. 2006. Disponível em: <[http://www.seminagro.com.br/trabalhos\\_publicados/1jornada/02\\_ciencia\\_e\\_tecnologia\\_de\\_alimentos/16cta.pdf](http://www.seminagro.com.br/trabalhos_publicados/1jornada/02_ciencia_e_tecnologia_de_alimentos/16cta.pdf)> Acesso em: 01/07/2010.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, Valéria C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R.. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Estratégia de la OMS sobre medicina tradicional 2002 – 2005**. OMS, Genebra, 2002.

VULCANO, Irma Regina Carrara; SILVEIRA, Josianne Nicácio; ALVAREZ-LEITE, Edna Maria. **Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. vol. 44. n.3. set, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review**. Geneva, 1998<sup>a</sup>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, **Quality control methods for medicinal plant materials**. ISBN 92 4 154510 0. Geneva, 1998<sup>b</sup>.