

## COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES EM ERVAS DE TERERÉ NACIONAIS E IMPORTADAS

### TOTAL AND THERMOTOLERANT COLIFORMS IN NATIONAL AND IMPORTED HERBS TO TERERÉ

Ingrid Camila Santos<sup>1</sup>, Mariana Felgueira Pavanelli<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitário Integrado.

\*Endereço para correspondência: Rodovia BR 158, KM 207, CEP 87309-650, Campo Mourão, Paraná.

Email: pavanelli.mari@gmail.com

#### RESUMO

A erva mate, *Ilex paraguariensis*, é nativa da América do Sul e grande parte da produção brasileira é consumida em forma de bebidas dentre elas o tereré. Durante todo o processamento da erva mate pode ocorrer contaminações microbiológicas, que podem comprometer a saúde do consumidor. Dentre os microrganismos contaminantes da erva, destacam-se os coliformes, que são utilizados para avaliar a condição higiênica dos alimentos. O objetivo desse trabalho foi verificar a presença de coliformes totais e termotolerantes em ervas de tereré fabricadas no Brasil e Paraguai. Foram utilizadas seis amostras de erva de tereré de diferentes marcas e a técnica utilizada para identificação de coliformes foi a de Número Mais Provável, em fases presuntiva e confirmativa. Das amostras brasileiras, 66,7% apresentaram coliformes totais e 33,3%, coliformes termotolerantes, já as amostras paraguaias apresentaram 66,7% para os dois tipos de coliformes. Apesar da ocorrência de contaminação verificada, as amostras atendem aos padrões microbiológicos exigidos pela legislação brasileira.

**Palavras-Chave:** erva mate; coliformes; *Escherichia coli*; análise microbiológica.

#### ABSTRACT

The yerba mate, *Ilex paraguariensis*, is native to South America and much of the Brazilian production is consumed in the form of drinks including the tereré. During all the processing of yerba mate it might occur microbiological contamination, which can compromise the health of the consumer. Among the contaminating microorganisms of the herb, there are the coliforms, which are used to assess the food hygiene. The objective of this work was to verify the presence of total and thermotolerant coliforms, in herbs to tereré manufactured in Brazil and Paraguay. We used six samples of herbs of tereré of different brands, and the technique used for coliforms identification was the most probable number, in phases and presumptive confirmatory. The Brazilian samples, 66.7% had total coliforms and 33.3% thermotolerant coliforms, the samples showed the Paraguayan 66.7% for the two types of coliforms. Despite the high rate of contamination observed results are within the standards required by the Brazilian legislation.

**Key Words:** yerba mate; coliforms; *Escherichia coli*; microbiological analysis.

#### INTRODUÇÃO

A erva mate, *Ilex paraguariensis*, é nativa da América do Sul, se desenvolve na Argentina, Paraguai e Brasil, e muito comercializada nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, São Paulo e Mato Grosso (1). Grande parte da produção brasileira de erva mate é consumida em forma de bebidas, como o chimarrão, chá mate e tereré, que consiste em uma infusão fria da erva mate (2). A erva mate é torrada e deixada em repouso por oito meses em local

seco para poder ser consumida com água fria (3).

O tereré é uma bebida criada pelos índios por volta do século XVII e atualmente é muito consumida nos estados do Paraná, São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, por serem regiões de clima quente. O hábito de tomar tereré foi adotado principalmente pelos jovens como forma de reunir os amigos para conversar nos fins de tarde, nos intervalos de aula nas escolas e até mesmo durante as aulas na faculdade (4).

O processamento automatizado da erva mate é utilizado somente em indústrias com grandes produções. Na produção manual ocorrem as seguintes etapas: branqueamento, secagem, cancheamento e embalagem. O branqueamento e a secagem constituem as etapas com maior facilidade de contaminação microbiana (5).

Até a obtenção do produto final, a erva mate ainda passa por diversas operações como uma nova secagem, limpeza por meio de peneiras, ventiladores, filtros e coletores de pó. E por fim, ocorre a mistura da erva, na qual as frações de paus, folhas, talos e pó são adicionadas na proporção adequada para compor os diversos tipos comerciais, sendo encaminhadas para o setor de embalagem (6).

Durante todo o processamento descrito podem ocorrer contaminações microbiológicas, podendo ocasionar algumas alterações no produto, relacionadas à cor, sabor, textura e aparência, comprometendo assim, a vida de prateleira do produto e a saúde do consumidor (5).

Dentre os microrganismos contaminantes da erva mate, destacam-se os coliformes. Estes pertencem à família Enterobacteriaceae, que se apresentam na forma de bastonetes gram negativos e estão presentes no trato intestinal do homem e de animais. Dependendo do habitat do microrganismo, os coliformes podem ser divididos em totais e termotolerantes, a bactéria *Escherichia coli* é a principal representante. Os coliformes são muito utilizados para avaliar as condições higiênicas - sanitárias dos alimentos, pois sua presença pode indicar que o alimento sofreu contaminação de origem fecal (7). Além disso, a ingestão de coliformes em alimentos e bebidas pode causar infecções restritas à superfície da mucosa ou se disseminar pelo organismo ocasionando infecções gastrointestinais graves (7).

A erva mate é muito utilizada no Brasil, e o Paraná está entre os estados que mais consomem a erva mate na forma de tereré, uma bebida de muito consumo principalmente na época do verão. Até chegar às prateleiras para ser vendida, a erva mate passa por vários processos, muitas vezes manuais, que se não forem realizados corretamente podem propiciar a contaminação do produto final. Dessa forma,

determinar a quantidade de coliformes em erva mate torna-se importante para assegurar os padrões de qualidade deste produto, e assim, garantir a saúde dos apreciadores do tereré. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo verificar a presença de coliformes totais e termotolerantes em erva de tereré fabricadas no Brasil e Paraguai.

## METODOLOGIA

Foram utilizadas seis amostras de erva de tereré de diferentes marcas comerciais, três fabricadas no Paraguai e três de origem brasileira. A técnica utilizada para identificação dos coliformes foi a dos tubos múltiplos, este método permite a quantificação por Número Mais Provável (NMP), sendo dividida em duas fases: presuntiva e confirmativa. Só foi realizada a fase confirmatória nas amostras positivas no teste presuntivo.

De cada amostra, foram pesadas asepticamente 25 gramas de erva mate em sacos plásticos estéreis e homogeneizadas em 225 ml de água peptonada 0,1% e filtrados com filtro de papel autoclavado a fim de obter a diluição inicial ( $10^{-1}$ ). A partir dessa diluição, foi retirado 1 ml e adicionado em tubo contendo 9 ml de água peptonada 0,1% obtendo a diluição ( $10^{-2}$ ) e o mesmo procedimento foi realizado para obter a diluição  $10^{-3}$ . A partir das diluições, foram inoculadas séries de três tubos contendo 9 ml caldo de Lauril Sulfato Triptose (LST) e 1 ml das amostras, utilizando tubo de Durham invertido, os quais foram incubados a 37 °C por 48 horas.

Após o período de incubação, as amostras que apresentaram formação de gás foram repicadas com alça de platina para os tubos contendo caldo Verde Brilhante (VB) e *Escherichia coli* (EC) com tubo de Durham invertido para os testes confirmatórios. Tais tubos foram incubados, a 37 °C e 45 °C, respectivamente, por 48 horas. A formação de gás nos tubos VB e EC confirma a presença de coliformes totais e termotolerantes, respectivamente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras de erva de tereré brasileiras, 66,7% ( $\frac{2}{3}$ ) apresentaram resultados positivo para coliformes totais e

33,3% ( $1/3$ ) para coliformes termotolerantes. Já as amostras paraguaias, 66,7% ( $2/3$ ) apresentaram resultados positivos para

coliformes totais e termotolerantes. Na Tabela 1, observa-se o NMP de cada amostra brasileira e paraguaia.

**Tabela 1** Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes em amostras de erva de tereré fabricadas no Brasil e Paraguai.

Amostra	País de fabricação	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NPM/g)
1	Paraguai	150	3,0
2	Paraguai	< 3,0*	<3,0*
3	Paraguai	>1.100	11
4	Brasil	< 3,0*	<3,0*
5	Brasil	23	3,6
6	Brasil	43	<3,0*

\*Resultado negativo

No Brasil, a resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 2 de janeiro de 2001, estabelece os padrões microbiológicos e sanitários para alimentos de consumo humano (8). Nesta resolução, determina-se a pesquisa microbiológica de interesse sanitário para produtos consumidos após a adição de líquido sem emprego de calor, que é o caso da erva de tereré, na qual o limite máximo de coliformes termotolerantes não deve ultrapassar 50 NMP/g. Sendo assim, nenhuma das amostras analisadas apresentou resultado fora dos padrões estabelecidos na regulamentação vigente. Ademais, a legislação brasileira não estabelece um padrão de aceitabilidade para coliformes totais em nenhum tipo de alimento (9). No Paraguai, os órgãos responsáveis por fiscalizar padrões referentes a alimentos é o Ministério de Saúde Pública e Bem-estar Social e Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN) (10).

Muitos alimentos se tornam perigosos ao consumidor quando violados os princípios básicos de sanitização e higiene. Se o alimento estiver exposto a condições que facilitem a entrada ou crescimento de microrganismos, este pode se tornar um veículo de transmissão de doenças (11). As condições de manejo, secagem e armazenamento podem influenciar no desenvolvimento de microrganismos aumentando a chance de contaminação. Como a *Ilex paraguariensis* é armazenada em grande quantidade após a colheita em depósitos, acaba gerando um *habitat*

propício para os microrganismos, o que acaba gerando prejuízos na saúde dos consumidores. (12).

As bactérias do grupo dos coliformes totais e termotolerantes são bastante empregadas como indicadores de condições higiênicas - sanitárias de água e alimentos. Dentre os coliformes em geral, *Escherichia coli* é um patógeno de destaque, pois a cepa de *E. coli* enterotoxigênica é a causadora da diarreia do viajante, a qual produz toxinas no intestino provocando hipermotilidade e diarreia que duram de 1 a 3 dias (13).

Segundo Silva (11), a legislação em relação a alimentos foi introduzida em muitos países com intuito de prevenir a venda de produtos fraudulentos, com objetivo de verificar desvio nos padrões de composição e peso. Recentemente, tal legislação sofreu modificações e incluiu considerações de saúde pública, como aquelas referentes à transmissão de microrganismos nocivos aos alimentos e ao consumidor. Padrões e regulamentos têm sido criados para assegurar que o alimento seja seguro, saudável e apresente as qualidades descritas na lei.

Como o Brasil e Paraguai são países vizinhos, muitos brasileiros vão até lá em busca de produtos com preços mais acessíveis. Dentre estes produtos, incluem-se alimentos que são comercializados no Brasil, como a erva de tereré paraguaia que é muito apreciada pelos brasileiros.

O *Códex Alimentarius* é um programa em conjunto com a Organização das Nações Unidas (ONU) para Agricultura e Alimentação

e da Organização Mundial da Saúde (OMS). Este tem como objetivo proteger a saúde dos consumidores e facilitar o comércio internacional, assegurar a prática de igualdade no comércio de alimentos, incluído padrões e diretrizes e guias sobre boas práticas de avaliação de segurança e eficácia (14). Entretanto, em função da proximidade entre os países e os limites fronteiriços terrestres, a erva de tereré fabricada no Paraguai não chega ao Brasil por exportação e sim por meio do comércio informal, dessa forma, não atende aos princípios do *Códex Alimentarius*.

A segurança alimentar tornou-se um problema de saúde pública pois, por ano, ocorrem cerca de dois milhões de mortes ocasionadas pela ingestão de água e alimentos contaminados. Os alimentos consumidos podem possuir diversas fontes de contaminação, desde a matéria prima até o processamento. Quando os alimentos contêm bactérias, vírus, parasitos ou

substâncias químicas nocivas, podem causar doenças graves e comprometer a saúde do consumidor, por isso avaliar a qualidade e segurança alimentar é importante, pois garante que os alimentos estejam aptos para o consumo (15).

## CONCLUSÃO

Os resultados experimentais desse trabalho demonstraram que 66,7% das amostras apresentaram contaminação para coliformes totais e 50% para termotolerantes, entretanto estas amostras se enquadram nos padrões exigidos pela legislação brasileira.

Apesar de atender aos padrões sanitários, a presença de coliformes totais e termotolerantes nas amostras revela uma possível contaminação de origem fecal, indicando condições higiênicas inadequadas durante processamento, produção ou armazenamento da erva de tereré.

## REFERÊNCIAS

- (1) EFING, L. et al. Caracterização química e capacidade antioxidante da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 2, 2009.
- (2) BERTE, K. A. et al. **Vida-de-prateleira: microbiologia da erva-mate chimarrão. Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 1, p. 95, 2006.
- (3) FONSECA, G. **A semiosfera do chá gelado: um olhar semiótico sobre a cultura mestiça do tereré. Revista Granphos**, v.16, n.2, p.14, 2014.
- (4) LUZ, A. R. **Concentrações séricas de cálcio e ferro em jovens consumidores de tereré (*Ilex paraguariensis*)**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em ciências da saúde) - Faculdade de ciências da saúde, Universidade de Brasília, Dourados-MS, 2007.
- (5) MENDES, R. M. et al. Matérias estranhas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) beneficiada no estado de Santa Catarina, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 103-107, 2007.
- (6) MACCARI, A.J. **Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão**. 2005. 215 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas - SP, 2005.
- (7) 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.
- (8) BRASIL. Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001, aprova o **Regulamento técnico sobre padrões microbiológico de alimentos**. Constante no anexo dessa resolução. Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <www.anvisa.gov.br=>. Acesso em: 17 out. 2017.
- (9) RODRIGUES, K.L. et al. Condições Higiênico – Sanitárias no Comércio Ambulante de Alimentos em Pelotas - RS, **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.3, p. 447-452, 2003.
- (10) PADULA, M.; CUERVO, M. Legislação de Embalagem para Contato com Alimentos: MERCOSUL e Outros Países Latinoamericanos. **Revista Polímeros Ciências e Tecnologia**, São Paulo - SP, v.14, n.1, p.6, 2004.
- (11) SILVA, M.C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos**

- com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate.** 2002. 87f. Dissertação (Mestrado em ciências e tecnologia de alimentos) – Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba - SP, 2002.
- (12) RENOVATTO,P.Y.; AGOSTINI.J. Qualidade microbiológica e físico-química de amostras de erva mate (*Ilex paraguariensis*) comercializadas em Dourados, MS. **Interbio**, v.2, n.2, p.9, 2008.
- (13) LOUGUERCIO, A .P.; ALEIXO,J.A.G. Microbiologia de queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, v. 31, n.6, p. 1063- 1067.2001.
- (14) MARINS,B.R.; TANCREDI,R.C.; GEMAL,A.L. **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária:** reflexões e práticas. Rio de Janeiro. EPSJV. 2014. 288 p.
- (15) MARTINS, A.I.C. **Controlo da qualidade:** Auditorias a métodos de ensaio. 2015. 257 f.(Mestrado em Química) - Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, 2015.

*Enviado: 08/12/2017*  
*Revisado: 30/01/2020*  
*Aceito: 19/03/2020*