

Determinação da qualidade microbiológica e físico-química de chás de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (capim-limão)

Eliane Carneiro Gomes^{1*}, Raquel Rejane Bonato Negrelle² e Eliane Rose Serpe Elpo¹

¹Departamento de Saúde Comunitária, Universidade Federal do Paraná, Rua Lothário Meissner, 632, 80210-170, Curitiba, Paraná, Brasil. ²Departamento de Botânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: elianegomes@ufpr.br

RESUMO. Em função do grande volume de produção e comercialização do capim-limão, estima-se que uma contaminação microbiológica deste produto possa representar importante risco para a saúde pública. Esta pesquisa visou avaliar marcas de chá de capim-limão, em relação às qualidades microbiológica e físico-química, tendo como base a legislação brasileira do Ministério da Saúde. Nenhuma das amostras apresentou *Salmonella* sp., porém em 50% delas, houve presença de coliformes a 35°C. Em três amostras, evidenciaram-se coliformes a 45°C, com presença de *Escherichia coli* em uma destas. 81,25% das amostras apresentaram bolores e leveduras, porém sem relação direta com os teores de umidade observados. Dentre os fungos presentes, identificou-se *Aspergillus niger*, no entanto sem produção de aflatoxinas. Todos infusos analisados negataram a contaminação evidenciada nos testes com o produto seco. Os resultados indicaram possíveis falhas nos procedimentos pós-colheita e de comercialização. A implementação do Sistema APPCC (HACCP) poderia substancialmente minimizar esta contaminação.

Palavras-chave: *Cymbopogon citratus*, microbiologia, aflatoxinas.

ABSTRACT. Evaluation of the microbiological and physical-chemical qualities of lemongrass tea. Considering the great volume of lemongrass production and commercialization, it is estimated that a potential microbiological contamination of this product could represent an important hazard to public health. This study was performed to evaluate different brands of lemongrass tea, regarding their microbiological and physical-chemical quality, based on the legislation of the Brazilian Health Ministry. No traces of *Salmonella* sp. were found, but in 50% of samples, the presence of coliforms was detected at 35°C. Three samples presented coliforms at 45°C, with *Escherichia coli* found in one of them. 81.25% of samples presented molds and yeasts. Among the fungi present, *Aspergillus niger* was identified, but aflatoxins were absent. None of the infusions analyzed presented the contamination evidenced in the dry product. The results obtained may be indicative of failure in procedures of postharvest and commercialization. The implementation of a hazard analysis and critical control point system (HACCP) could reduce this contamination substantially.

Key words: *Cymbopogon citrates*, microbiology, aflatoxins.

Introdução

Assim como outros alimentos, os chás, definidos como “produto a ser consumido após a adição de líquido, com o emprego de calor (mínimo 75°C por 20 segundos), obtido ou não por processamento térmico, como torrefação e similares” (Brasil, 2001), são também passíveis de contaminação microbiana, exigindo cuidados especiais durante a manipulação, desde o plantio até a comercialização. Neste contexto, a composição da matéria-prima, associada ao seu pH e teor de umidade, e os diferentes tipos de tecnologias empregadas na sua fabricação e respectivas condições higiênico-sanitárias serão determinantes na qualidade do produto final de consumo, o chá. Quando estas

condições são inadequadas, gera-se um produto de má qualidade, que poderá veicular vários microrganismos patogênicos ao consumidor (WHO, 1992; Jay, 2000).

Dentre os principais microrganismos potencialmente patogênicos encontrados em vegetais estão *Salmonella* sp e *Escherichia coli*, ambos associados à contaminação fecal (WHO, 1992). Apesar de existirem poucos relatos sobre as enfermidades de origem alimentar no Brasil, segundo Silva *et al.* (2002), algumas publicações científicas do exterior sugerem que casos de distúrbios gastrointestinais observados nos Estados Unidos, tal como diarreia infantil, estejam associados à contaminação fecal de chás (Zhao *et al.*, 1997).

Segundo Campos (1980), todas espécies de

Salmonella devem ser consideradas como agentes potencialmente patogênicos, apesar de somente algumas delas serem mais comumente relacionadas a enfermidades (salmonelose), que, nos casos mais graves, podem evoluir à morte. Os alimentos que comumente servem de veículo de salmonelose ao homem são, principalmente, os de origem animal (Jay, 2000). Porém, outros alimentos de origem vegetal já foram associados a surtos de salmonelose, que foram correlacionados à utilização de esterco de aves para adubação, deficiências de higiene e do não-emprego das boas práticas de manipulação dos produtos comercializados (Barros et al., 2002).

Escherichia coli, por sua vez, pertence ao grupo das bactérias coliformes, é empregada como indicadora de poluição de origem fecal desde 1892 (Reinhardt, 1984). Algumas cepas desta bactéria são enteropatogênicas, muito tóxicas e têm sido identificadas, de forma crescente, em vários surtos de grande gravidade (Leite et al., 2002).

Os fungos (mofos e bolores) são também considerados grandes inimigos dos produtos alimentícios, especialmente alimentos secos armazenados, como os chás, que, pela característica higroscópica, facilitam o desenvolvimento destes microrganismos. Estes organismos aparecem quando o material está com teor de umidade acima do ideal ou se o local de armazenagem não está suficientemente arejado e seco (ICMSF, 1997). Muitos fungos, além de alterar os teores de princípios ativos, fazendo com que os produtos percam seu valor terapêutico, conforme Corrêa Junior et al. (1994), causam várias doenças alergênicas e, também, podem produzir micotoxinas, algumas das quais potencialmente patogênicas, como as aflatoxinas. Enfatiza-se que a não-deteção de fungos em amostras de produtos comercializados não implica necessariamente a ausência de micotoxinas, uma vez que o processo industrial não exime o alimento destas (Nietsche, 2002).

Dentre os chás comercializados no Brasil e no exterior, encontra-se o de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (capim-limão), que tem uso industrial como alimento, medicamento, cosmético e em perfumaria (Battacharyya, 1970; Thapa et al., 1971; Lawrence, 1978). Também o chá das folhas é de grande utilização em medicina popular, principalmente como calmante (Mattos e Das Graças, 1980; Van Den Berg, 1980; Matos et al., 1982; Nogueira, 1983).

O *Cymbopogon citratus* é cultivado em todos países na região dos trópicos. No Brasil, tem sido a principal fonte de óleos brutos. A produção brasileira concentra-se nas regiões sul e sudeste, onde, na primeira, especialmente no Paraná, maior

produtor de plantas medicinais aromáticas, na safra 2003/2004, ocupou uma das melhores posições no ranking das plantas medicinais paranaenses (Paraná, 2006). Também, conforme resultado de pesquisa de campo nos segmentos supermercadista e industrial na cidade de Curitiba, Estado do Paraná, o chá de capim-limão foi apontado como um dos principais chás comercializados pelas empresas do ramo. Adicionalmente, os resultados de pesquisas de campo da tese, previamente obtidos junto aos diversos segmentos da cadeia produtiva do capim-limão no Estado do Paraná evidenciaram ausência de boas práticas agrícolas, em diferentes etapas, englobando desde o cultivo, beneficiamento, transporte até a armazenagem.

Diante do exposto, estima-se que potencial contaminação microbiológica deste produto poderia representar alto risco para a saúde pública. Com vistas à segurança alimentar, o presente trabalho buscou analisar marcas de chá de capim-limão, em relação à qualidade microbiológica e físico-química, pela avaliação do número mais provável de bactérias coliformes a 35°C e de coliformes a 45°C, pelas pesquisas de *Escherichia coli* e de *Salmonella* sp., contagem de bolores e leveduras, identificação dos fungos contaminantes e pelas determinações do teor de umidade, pH e aflatoxinas, tendo como base a legislação brasileira do Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa – para alimentos, considerando as mudanças sofridas com relação aos padrões microbiológicos para chás.

Material e métodos

Seleção das marcas analisadas

Por meio de levantamento prévio, foram detectadas aproximadamente 20 marcas de chás comercializadas na cidade de Curitiba, Estado do Paraná. Destas, selecionaram-se aquelas que se enquadravam nos seguintes critérios: estar entre as marcas de chá de capim-limão de maior volume de vendas, ser produto de origem paranaense e apresentar ampla oferta na rede de supermercados. Como critério complementar de seleção deste trabalho, utilizou-se o tipo de cultivo: orgânico com certificação e tradicional, selecionando-se marcas representativas de ambos os tipos detectados. No total, quatro marcas foram selecionadas, aqui designadas pelos números de 1 a 4, de modo a proteger suas identidades.

Preparo e análise das amostras

O período de coleta ocorreu de outubro de 2001 a fevereiro de 2002, em supermercados na cidade de

Curitiba, Estado do Paraná, selecionados de acordo com a disponibilidade da marca a ser avaliada. Para o delineamento da colheita e o preparo das amostras, incluindo a inspeção, o acondicionamento, o transporte e a quarteação, utilizaram-se as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985) e a legislação brasileira (Brasil, 2001). Esta legislação (RDC nº 12/01) prevê a realização de análises de amostras denominadas indicativas, as quais dispensam amostragem estatística. Dessa forma, colheu-se uma unidade amostral (equivalente a 100 g de produto) para cada lote analisado.

As amostras, correspondentes aos conteúdos de sachês ou de porção de planta fragmentada embalada, foram organizadas de modo a representar quatro lotes das quatro marcas de chá de capim-limão avaliadas, denominados A, B, C, D e 1 a 4, respectivamente, totalizando 16 amostras analisadas.

Após a colheita, as amostras foram transportadas e acondicionadas à temperatura ambiente até o laboratório da disciplina de Saúde Pública da Universidade Federal do Paraná, onde foram analisadas, levando em consideração: a) o número mais provável de coliformes a 35°C e de coliformes a 45°C; b) pesquisa de *Escherichia coli*; c) pesquisa de *Salmonella* sp.; d) contagem de bolores e leveduras; e) identificação dos fungos contaminantes; f) pH; g) teor de umidade (ambos em amostras secas) e h) determinação de aflatoxinas.

Os procedimentos de análises laboratoriais microbiológicas e físico-químicas foram realizados e confirmados em duplicatas ou triplicatas.

Posteriormente, para as amostras que apresentaram os maiores níveis de contaminação microbiana, prepararam-se infusos, os quais foram igualmente submetidos às análises microbiológicas. Estes foram preparados de acordo com as recomendações da Farmacopéia Brasileira (1998) e da legislação do Ministério da Saúde (Brasil, 2001). Para tanto, pesaram-se assepticamente 5 g do material vegetal e adicionaram-se 100 mL de água tratada em temperatura e tempo de repouso distintos. Dessa forma, prepararam-se três infusos (um com temperatura de infusão de 76°C e dois com água fervente). Previamente às análises, foi efetuado um repouso em recipiente fechado por 30 segundos (para o infuso a 76°C) e 15 e 30 minutos, para os demais infusos, respectivamente. Resfriaram-se os infusos a 40°C e cada um deles foi submetido às seguintes análises: a) o número mais provável de coliformes a 35°C e de coliformes a 45°C; b) pesquisa de *Escherichia coli* e c) contagem de bolores e leveduras.

As análises de coliformes a 35 e a 45°C, pesquisa

de *Escherichia coli* e de *Salmonella* sp. seguiram as recomendações da American Public Health Association - APHA (Vanderzant e Splitstoesser, 1992), Food and Drug Administration (FDA, 1984; 1995) e Silva *et al.* (1997). Este último, além de seguir as metodologias descritas nos citados APHA e FDA, emprega as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), da International Commission on Microbiological Specifications For Foods (ICMSF) e da Organização Internacional de Normalização (ISO).

Para a determinação do número mais provável de coliformes a 35 e 45°C, foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos de fermentação. Para a pesquisa de *E. coli*, as colônias suspeitas foram transferidas para ágar nutriente, igualmente incubadas e inoculadas em meios do kit específico para identificação de enterobactérias, segundo as recomendações constantes no manual do fabricante para a inoculação e interpretação dos resultados (Newprov, 2002).

A contagem de bolores e leveduras foi realizada por meio do cultivo em profundidade, segundo American Public Health Association - APHA, ABNT e ICMSF, adaptados e contidos em Silva *et al.* (1997).

A identificação dos fungos contaminantes foi efetuada por meio da técnica de cultura em lâmina, segundo Neder (1992), Hajdenwurcel (1998) e Ribeiro e Soares (1998). A determinação das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ seguiu as recomendações da Food and Drug Administration - FDA, contidas no método de Prado (1993), que emprega cromatografia em camada delgada, seguida de reação de confirmação da identidade das aflatoxinas B₁ e G₁, pelo uso do ácido trifluoracético.

As análises físico-químicas relativas ao teor de umidade e determinação de pH foram realizadas aplicando-se o método de aquecimento direto e eletrométrico, respectivamente, conforme Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

Legislação de referência

Utilizou-se como referencial de análise a legislação brasileira específica em vigor para padrões microbiológicos em alimentos – Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2001), que exige a pesquisa de *Salmonella* sp. Esta Resolução revoga a Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997, Brasil (1998a), a qual exigia a pesquisa de *Salmonella* sp., bactérias coliformes a 45°C, bolores e leveduras.

Adicionalmente, utilizou-se a Portaria nº 519,

Brasil (1998b), que fixa o padrão de identidade e qualidade de chás, para avaliação do teor de umidade e a Resolução nº 34 de 1976, que fixa os limites de tolerância de aflatoxinas para alimentos (Brasil, 1977). A legislação brasileira não estabelece parâmetros para a determinação do pH em chás (Brasil, 1998b).

Resultados e discussão

Qualidades microbiológica e físico-química do produto seco

Registrou-se a presença de coliformes a 35°C ou coliformes em 50% das 16 amostras analisadas. O número mais provável (NMP) variou de 9 NMP g⁻¹ a superior a 1100 NMP g⁻¹. Em três amostras, evidenciaram-se coliformes de origem fecal (denominados coliformes a 45°C), com presença de *Escherichia coli* em uma destas (Tabela 1). A presença de bactérias coliformes, dentre outros microrganismos, em alimentos industrializados, geralmente, pode ser considerada como indicativo de falhas nas condições sanitárias de processamento pós-colheita. Isto se deve, provavelmente, ao uso de equipamentos e utensílios “sujos” e à matéria-prima contaminada pelo contato com manipuladores, água ou solo (Reis Filho, 1979).

Em análise microbiológica, procedida em material fresco imediatamente após colheita, realizada no principal núcleo produtor do Paraná (Cascavel), evidenciou-se a presença de bactérias coliformes de origem fecal. Este fato reforça a existência de condições pré-existentes ao

beneficiamento, tais como o emprego da adubação orgânica e a falta de medidas higiênicas-sanitárias no local ou por parte do manipulador, que poderiam estar associadas à contaminação evidenciada nas marcas analisadas. Neste sentido, a implementação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) de Bryan (Bryan, 1992), recomendada pela Organização Mundial da Saúde, permitiria subsidiar práticas de boas condições higiênicas-sanitárias a serem adotadas em todos os elos da cadeia produtiva do chá de capim-limão. Consequentemente poder-se-ia, substancialmente, minimizar esta contaminação (Salvador et al., 2002; Sistema APPCC, 2002). Salienta-se que o Ministério da Saúde do Brasil utiliza este sistema como referência no controle sanitário de alimentos (Brasil, 1993).

Nenhuma das amostras de chá de capim-limão analisadas apresentou *Salmonella* sp., o que de certa forma era esperado, visto a baixa incidência deste microrganismo em alimentos de origem vegetal.

Bolores e leveduras foram evidenciados em 13 das 16 amostras analisadas (81,25%), registrando-se de 10 a 7,5 x 10⁴ UFC g⁻¹. Este último valor foi encontrado em uma única amostra e superou os limites estabelecidos pela Portaria 451/97 (Brasil, 1998a), que correspondem a 5 x 10³ UFC g⁻¹ (Tabela 1). Estes valores de bolores e leveduras encontrados indicam potenciais falhas associadas às condições de embalagem, armazenagem e vida de prateleira.

Tabela 1. Análises microbiológicas e físico-químicas procedidas em marcas de chá de capim-limão comercializadas no segmento supermercado de Curitiba – nov. 2001/nov. 2002.

Análises microbiológicas*	Coliformes a 35°C (NMP g ⁻¹)	Coliformes a 45°C (NMP g ⁻¹)	<i>E. coli</i> (NMP g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> sp. (em 25 g)	Teor de umidade (max. g 100 g ⁻¹)	Bolores e leveduras (UFC g ⁻¹)	Identificação dos fungos	Aflatoxinas (em 50 g)
Legislação								
Port. 451	N/E	10/g	N/E	Aus.	N/E	5 x 10 ³	N/E	N/E
RDC 12	N/E	N/E	N/E	Aus.	N/E	N/E	N/E	N/E-
Res. 34	-	-	-	-	N/E	-	-	-30 ppb p/ B 1 e G 1
Port. 519	-	-	-	-	12,0			
MARCA/LOTE								
1/A	< 3	< 3	< 3	Aus.	3,1	< 10	-	ND
1/B	< 3	< 3	< 3	Aus.	2,0	1,5 x 10	-	ND
1/C	< 3	< 3	< 3	Aus.	2,0	10	-	ND
1/D	< 3	< 3	< 3	Aus.	2,0	< 10	-	ND
2/A	< 3	< 3	< 3	Aus.	2,1	7,5 x 10	-	ND
2/B	4,3 x 10	< 3	< 3	Aus.	2,0	9,7 x 10 ²	Fungo filamentososo não identificado	ND
2/C	> 1,1 x 10 ³	> 1,1 x 10 ³	< 3	Aus.	2,1	3,85 x 10 ²	<i>Aspergillus niger</i>	ND
2/D	> 1,1 x 10 ³	> 1,1 x 10 ³	4	Aus.	1,77	7,5 x 10 ⁴	<i>Aspergillus niger</i>	ND
3/A	1,5 x 10 ²	< 3	< 3	Aus.	19,0	3,0 x 10	-	ND
3/B	1,5 x 10 ²	< 3	< 3	Aus.	19,0	3,5 x 10 ²	Fungo filamentososo não identificado	ND
3/C	9	< 3	< 3	Aus.	18,6	8 x 10	-	ND
3/D	< 3	< 3	< 3	Aus.	19,1	5,5 x 10	-	ND
4/A	< 3	< 3	< 3	Aus.	18,3	< 10 ²	-	ND
4/B	2,1 x 10 ²	< 3	< 3	Aus.	18,0	10	-	ND
4/C	> 1,1 x 10 ³	4	< 3	Aus.	18,0	2,5 x 10 ²	Fungo filamentososo não identificado	ND
4/D	< 3	< 3	< 3	Aus.	17,5	< 10	-	ND

N/E = não estabelecido pela legislação; - = análise não-realizada; Aus. = ausência; ND = não-detectado.

Observou-se que as amostras de chá contidas em embalagens secundária ou terciária apresentaram valores inferiores de teor de umidade (variando de 2,0 a 3,1%) aos obtidos para aquelas em embalagens primárias (produto em contato direto com a embalagem), cujos valores ficaram entre 17,5 a 19,1%, (Figura 1, Tabela 1), ultrapassando os limites dados pela Portaria n° 519/98 (Brasil, 1998b), que estabelece teor de umidade máximo de 12% para chá de capim-limão.

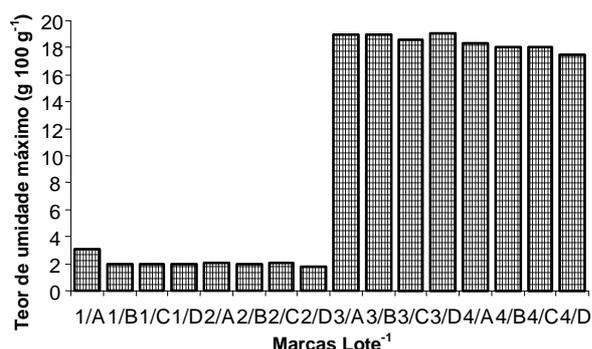


Figura 1. Teor de umidade máximo (g 100 g⁻¹) de marcas de chá de capim-limão comercializadas no segmento supermercado de Curitiba – nov. 2001/nov. 2002.

Ao relacionarem-se os dados, não foi constatada relação direta entre os maiores teores de umidade e os maiores índices de contaminação fúngica (Tabela 1). Apesar do teor de umidade baixo, a marca 2 (embalagem secundária) apresentou os maiores índices de bolores e leveduras, inclusive com um dos lotes superando os limites estabelecidos pela legislação. As marcas 3 e 4 (embalagens primárias), embora com altos teores de umidade, não apresentaram valores expressivos de bolores e leveduras. Isto leva a crer que além da embalagem e do respectivo teor de umidade, há outros fatores associados, tais como procedimentos inadequados de manejo de colheita e pós-colheita. A adoção de procedimentos adequados irá, seguramente, proporcionar menores índices de contaminação biológica. Entre estes se citam: colheita sobre um pano de colheita; processamento no mesmo dia da colheita no campo, evitando, assim, as condições de proliferação de fungos pela umidade do material verde; não-exposição da planta verde (folhas) às condições climáticas, como chuva, ou insolação direta ou disposição do material diretamente no solo, contaminando-o inclusive com várias bactérias, comuns no solo (Nietsche, 2002).

Também se deve considerar que o chá é um produto higroscópico e que, portanto, sua qualidade final dependerá em grande parte do controle de

umidade do seu conteúdo. Dessa forma, a primeira exigência ao empacotá-lo é providenciar uma barreira adequada contra a umidade (Ranken, 1993). Além disso, deve-se considerar a conservação adequada do produto em termos de tempo e temperatura no processo de transporte e comercialização deste. Então, novamente, ressalta-se a necessidade da adoção do Sistema APPCC (Bryan, 1992), que, ao abranger todos os níveis da cadeia produtiva do capim-limão, possibilitaria prevenir a ocorrência deste tipo de contaminação.

Os valores de pH evidenciados para as amostras analisadas foram de 5,5 a 5,9 e não são considerados restritivos ao desenvolvimento de microrganismos como fungos e bactérias. Segundo Jay (2000), os valores de pH mais baixos propiciam o desenvolvimento de fungos, enquanto que as leveduras desenvolvem-se em valores de pH entre 2,0 a 8,0 e valores acima de 6,0 favorecem a proliferação de bactérias. Dessa forma, reitera-se a importância de medidas preventivas para evitar a proliferação microbiana, tais como armazenamento adequado em termos de temperatura e umidade.

Dentre os fungos presentes, identificou-se *Aspergillus niger* em duas das amostras analisadas. *Aspergillus* sp. são comuns no meio ambiente, passíveis de serem inalados e causar a doença infecciosa oportunista denominada aspergilose, podendo gerar lesões na pele e outros órgãos. A partir do desenvolvimento hifal destes fungos e sua consequente invasão de vasos sanguíneos, geram-se necroses hemorrágicas e potencial disseminação para outros locais em pacientes suscetíveis, como trombocitopênicos e os com insuficiência respiratória (Bionline, 2004; Merck, 2002).

Nenhuma das amostras de chá de capim-limão analisadas apresentou aflatoxinas. No entanto, ressalta-se que os padrões utilizados para detecção destas (B1, B2, G1, G2) referem-se a toxinas principais produzidas por algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. São conhecidas mais de uma dezena de aflatoxinas originadas dos grupos B1 e G1, como M1 e M2, e a primeira tem potencial carcinogênico comprovado (Taveira e Mídio, 1999). A limitação do método empregado, ao detectar as quatro aflatoxinas principais, somada à lacuna na legislação brasileira (Brasil, 1977) para o produto chá, por estabelecer limites apenas para as aflatoxinas B1 e G1, aliadas à deficiência de conhecimento sobre a potencial produção de toxinas por outros fungos, revelam-se como obstáculos à análise de muitos produtos comercializados. Dessa forma, a ausência de aflatoxina não significa que o produto seja inócuo no que se refere a micotoxinas.

Qualidade microbiológica do infuso

Independentemente do tempo de contato e temperatura empregada, todos infusos de capim-limão analisados negativamente a contaminação evidenciada nos teste com o produto seco, utilizando-se como referência os parâmetros estabelecidos na legislação vigente.

Entretanto, quando alternativamente se exclui a inoculação inicial no meio de enriquecimento ADP 0,1% (água destilada peptonada), apenas os resultados relativos a bolores e leveduras foram consistentes aos obtidos nos testes anteriores, ou seja, a contagem permaneceu alta, com valor de $9,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹.

Apesar da maioria dos resultados favoráveis obtidos com a infusão, ressalta-se a importância de os chás estarem livres de contaminação prévia, pois os resultados obtidos sugerem que esta poderia permanecer conforme as condições empregadas no processo de infusão. No crescimento de microrganismos, dentre outros fatores, o tempo e a temperatura são fundamentais. Assim, para se assegurar de que o infuso consumido estaria livre de contaminação microbiana, o consumidor teria que empregar temperaturas de infusão e tempos de contato que fossem suficientes para eliminar estes agentes contaminantes, e como saber se isto ocorreu?

A bactéria *E. coli* é classificada, de acordo com a sua termorresistência, como um microrganismo mesófilo, sendo a temperatura ótima para seu crescimento de 35 a 45°C, a mínima de 5 a 15°C e a máxima de 35 a 47°C. O crescimento desta bactéria é inibido em temperaturas acima de 47°C e inferiores a 5°C (ICMSF, 1991).

As salmonelas, também mesófilas, podem ser destruídas pelos processos usuais de cozimento, geralmente à temperatura de 55°C, por 1h, a 66°C por 15 a 20 minutos, ou a 65,5°C por 12 minutos são suficientes, porém há exceções. O sorotipo *S. sentenberb* é de 10 a 20 vezes mais resistente ao calor que as demais salmonelas (Campos, 1980). De modo geral, a 65°C por 10 minutos, destruir-se-iam todos os mesófilos não-esporulados. No entanto, os esporos bacterianos são muito resistentes a temperaturas extremas. Alguns podem sobreviver em condições que variam de minutos a 120°C e horas a 100°C (ICMSF, 1991).

A resistência dos fungos à ação térmica é muito menor que aquela das bactérias, havendo, como nesta, grande variação. Várias espécies de *Aspergillus* são destruídas em temperaturas que variam de 60 a 80°C. A maioria das leveduras e fungos morre em uns minutos a 70-80°C e, nos alimentos úmidos,

resistem a mais de 100°C. Entretanto, algumas espécies como *A. chevalieri* sobrevivem a 75°C por 10 minutos (Lacaz et al., 1970).

Considerando o exposto, enfatiza-se que a melhor medida é a prevenção pelo consumo de alimentos de qualidade adequada obtida a partir do emprego de procedimentos corretos desde o seu cultivo até a utilização final pelo consumidor. A qualidade do produto agrícola – neste caso, o capim-limão – inicia-se no campo, de modo que cabe aos agentes econômicos, que atuam e processam a cadeia produtiva, mantê-la.

Conclusão

Os resultados comprobatórios laboratoriais evidenciaram duas situações que carecem ponderações críticas referentes à legislação brasileira vigente.

Não existe referencial legal que determine controle de pH, a partir de um valor definido e associado a teores de umidade do produto e condições de armazenamento, o que seria desejável para a segurança alimentar do consumidor.

Também, evidencia-se lacuna importante na legislação brasileira - Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12/01 - Anvisa (Brasil, 2001), que quantifica, qualifica e determina a flora microbiana aceitável para os produtos alimentícios. Como exemplo, cita-se que apesar da presença de vários microrganismos, alguns patogênicos, na maioria das amostras de chá analisada, nenhuma delas seria considerada imprópria ao consumo. Isto se deveu, principalmente, pela ausência de *Salmonella* sp., dado que esta legislação não exige controle dos demais microrganismos. A legislação anterior - Portaria nº 451 de 1997, que foi revogada pela RDC nº 12/01, englobava adicionalmente a pesquisa de coliformes a 45°C e bolores e leveduras, atualmente não-exigida (Brasil, 1998a; 2001).

A mudança que ocorreu na legislação, acima apresentada, pode ocasionar prejuízos em termos da qualidade do produto, bem como colocar em risco a segurança alimentar do consumidor. Vários relatos apontam para a permanência de contaminantes biológicos após o processo de infusão. Os resultados deste trabalho, negativamente a contaminação da matéria seca após infuso, foram obtidos em condições assépticas e controladas de tempo e temperatura. Isto não ocorre no ambiente usual de consumo doméstico. Portanto, o risco de permanência da contaminação deve ser considerado.

Pertet et al. (1988) registraram a ocorrência de contaminação fecal em vários alimentos de preparo quente, inclusive chás. Os fatores apontados como

determinantes na baixa incidência de contaminação foram: os procedimentos corretos de manufatura, os alimentos serem cozidos por períodos de tempo relativamente longos e à alta temperatura, sendo ingeridos quase que imediatamente após o preparo.

Zhao *et al.* (1997) evidenciaram a contaminação fecal em chás gelados servidos em restaurantes americanos, incluindo bactérias como *Klebsiella* e *Enterobacter*. Estes autores atribuíram a contaminação registrada às práticas higiênicas inadequadas no manuseio após a infusão.

A manutenção da obrigatoriedade legal das pesquisas relativas aos coliformes a 45°C (coliformes fecais) e à *Escherichia coli*, bem como de bolores e leveduras, seria um mecanismo adicional eficiente na prevenção de doenças transmitidas por alimentos.

Agradecimentos

À chefia do Departamento de Saúde Comunitária, aos professores, técnicos e acadêmicos da Universidade Federal do Paraná. À primeira, pelo apoio e aquisição do material de consumo; aos demais, pela assistência técnica nas pesquisas realizadas, em especial aos professores, pelo auxílio na identificação dos microrganismos, análise crítica do texto e sugestões à proposta de estudo. Estas duas últimas, também contaram com a participação da socióloga da Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná.

À chefia, aos farmacêuticos e técnicos do Laboratório Central do Estado do Paraná. À primeira pela utilização da infra-estrutura da Instituição. Aos funcionários do Setor de Físico-Química, pelo constante auxílio nas determinações de aflatoxinas; aos dos Setores de Microbiologia de Alimentos e Preparo de material e meios de cultura, pelos esclarecimentos prestados em etapas técnicas deste trabalho.

Aos funcionários do Instituto de Tecnologia do Paraná – Tecpar – Setor de Microbiologia, pela doação das cepas-controle.

Referências

BARROS, V.R. *et al.* *Salmonella* spp: sua transmissão através dos alimentos. *Hig. Aliment.*, São Paulo, v. 16, p. 15-19, 2002.

BATTACHARYYA, S.C. Perfumery chemicals from indigenous raw materials. *J. Indian Chem. Soc.*, Calcutta, v. 47, p. 307-313, 1970.

BIONLINE. *Aspergilose*. 2004. Disponível em: <<http://www.bioline.net>>. Acesso em: jul. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 34. Fixa Limite máximo de tolerância para Aflatoxinas. *Diário Oficial da União*, Brasília, 19 jan. 1977.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria da SVS/MS nº 1428, de 26 de nov. de 1993. Regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos Cod.-100 a 001.0001. Diretrizes para estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos. Regulamento técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade – (PIQs) para Serviços e Produtos na área de alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 dez. 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria da SVS/MS nº 451 de 19 set. de 1997. Regulamento técnico sobre os princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2 jul. 1998a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria da SVS/MS nº 519 de 26 de jun. de 1998. Fixação da identidade e qualidade de chás-plantas destinada à preparação de infusões ou decocções. *Diário Oficial da União*, Brasília, 29 jun. 1998b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 12 de 02 jan. 2001. Regulamento técnico sobre os Padrões Microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 10 jan. 2001.

BRYAN, F. Análise de perigos e pontos críticos de controle. Genebra: OMS, 1992.

CAMPOS, M.L.C. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* e bactérias do gênero *Salmonella* em carne moída, vendida no município de São Paulo: 1976/1977. 1980. Tese (Doutorado em Microbiologia)–Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.

CORRÊA JUNIOR, C. *et al.* *Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas*. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 1994.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. v. 2, pte.1.

FDA-Food and Drug Administration. *Bacteriological analytical manual*. 6th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1984.

FDA-Food and Drug Administration. *Bacteriological analytical manual*. 8th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1995.

HAJDENWURCEL, J.R. *Atlas de microbiologia de alimentos*. São Paulo: Fonte, 1998. v. 1.

IAL-Instituto Adolfo Lutz. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1.

ICMSF-International Commission on Microbiological Specifications for Foods; IUMS-International Union of Microbiological Societies. *Ecologia microbiana de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 1991.

ICMSF-International Commission on Microbiological Specifications for Foods; IUMS-International Union of Microbiological Societies. *APPCC, na qualidade e segurança microbiológica de alimentos: análise de perigos e pontos críticos à qualidade e segurança microbiológica de alimentos*. Tradução: Anna Terzi Giova. Revisão científica: Eneo Alves da Silva Junior. São Paulo: Varela, 1997.

JAY, J.M. *Modern food microbiology*. 6th ed. Maryland: Aspen, 2000.

- LACAZ, C.S. et al. *O grande mundo dos fungos*. São Paulo: Polígono, 1970.
- LAWRENCE, B.M. Progress in essential oils. *Perfum. Flavor.*, Wheaton, v. 3, p. 36-41, 1978.
- LEITE, C.C. et al. Avaliação do comportamento da *Escherichia coli* 0157: h7 em polpas de frutas. *Hig. Aliment.*, São Paulo, v. 16, p. 67-73, 2002.
- MATOS, P.J.A. et al. Plantas medicinais de uso popular no Ceará. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 7., 1982, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: UFMG, 1982. p. 119.
- MATTOS, J.K.A.; DAS GRAÇAS, M.A. Coleção viva de ervas medicinais na Universidade de Brasília: primeiro ano de observações. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 33, p. 96-103, 1980.
- MERCK. *Aspergilose*. 2002. Disponível em: <<http://merck.com>>. Acesso em: jul. 2004.
- NEDER, R.N. *Microbiologia: manual de laboratório*. São Paulo: Nobel, 1992.
- NEWPROV. Manual de identificação de enterobactérias. Paraná, 2002.
- NIETSCHE, K. *Caracterização da qualidade da erva-mate canheada*. 2002. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.
- NOGUEIRA, M.J.C. *Fitoterapia popular e enfermagem comunitária*. 1983. Tese (Livre Docência em Enfermagem)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 1983.
- PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. Departamento de Economia Rural. *Levantamento do valor bruto da produção agropecuária: especiarias: safra 2003/ 2004*. Curitiba: SEAB/PR, 2006.
- PERTET, A.M. et al. Weaning food hygiene in Kiambu, Kenya. In: ALNWICK, D. et al. (Ed.). *Improving young child feeding in eastern and southern Africa*: Household-level food technology. Ottawa: IDRC, 1988. p. 234-239.
- PRADO, G. *Método para determinação de aflatoxinas (B1, B2, G1, G2), ocratoxina e zearalenona*. Belo Horizonte: Fundação Ezequiel Dias, 1993.
- RANKEN, M.D. *Manual de industrias de los alimentos*. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993.
- REINHARDT, N.M. *Condições sanitárias e classificação das águas do mar destinadas à balneabilidade de praias do Estado do Paraná*. 1984. Tese (Doutorado em Saúde Pública)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 1984.
- REIS FILHO, S.A. *Determinação quantitativa de alguns grupos de microrganismos em manteigas vendidas em supermercados do município de São Paulo: 1977/1978*. 1979. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 1979.
- RIBEIRO, M.C.; SOARES, M.M.S.R. *Microbiologia prática: roteiro e manual bactérias e fungos*. São Paulo: Atheneu, 1998.
- SALVADOR, I.E.O. et al. A segurança alimentar em ração para animais. *BANAS Qualidade*, São Paulo, v. 11, p. 24-26, 2002.
- SILVA, M.C.D. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de pescado comercializado em Maceió. *Hig. Aliment.*, São Paulo, v. 16, p. 60-4, 2002.
- SILVA, N. et al. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela; 1997.
- SISTEMA APPCC: garantindo a produção de alimentos seguros. *BANAS Qualidade*, São Paulo, v. 11, p. 20-24, 2002.
- TAVEIRA, J.; MÍDIO, A.F. Aflatoxina M1: a micotoxina do leite. *Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 33, p. 115-26, 1999.
- THAPA, R.K. et al. Screening of *Cymbopogon* species for useful constituents. *Flavour Ind.*, London, v. 2, p. 49-51, 1971.
- VAN DEN BERG, E. Contribuição à flora medicinal do Mato Grosso. *Cienc. Cult.*, São Paulo, v. 33, p. 163-170, 1980.
- VANDERZANT, C.; SPLITSTOESSER, D.F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3th ed. Washington: American Public Health Association, 1992.
- WHO-World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: WHO, 1992.
- ZHAO, T. et al. Health relevance of the presence of fecal coliforms in iced tea and leaf tea. *J. Food Prot.*, Des Moines, v. 60, p. 215-218, 1997.

Received on November 30, 2006.

Accepted on March 28, 2008.