

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MARCELA (ACHYROCLINE SATUREIODES (LAM.) DC.) COMERCIALIZADA NA REGIÃO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL¹

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MARCELA (ACHYROCLINE SATUREIODES (LAM.) DC.) MARKETING IN THE NORTHWEST REGION OF RIO GRANDE DO SUL

Monik Compagnoni Martins², Eveline Dischkaln Stolz³, Marta Grassi Gadea⁴, Terimar Ruoso Moresco⁵

¹ Projeto de pesquisa realizado no curso de Ciências Biológicas da UFSM-PM

² Aluna do Curso de Graduação em Ciências Biológicas Licenciatura Plena da UFSM-PM, monikcmartins@hotmail.com

³ Doutora em Ciências Farmacêuticas, Colaboradora, evestolz@yahoo.com.br

⁴ Técnica do Laboratório de Micrologia da UFSM-PM, martagadea@bol.com.br

⁵ Professora Doutora do Departamento da Saúde da UFSM-PM, Orientadora, terimarm@hotmail.com

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais vêm sendo utilizadas para o tratamento, cura e prevenção de doenças desde a antiguidade, possuindo origem na China e Egito, difundindo-se, posteriormente, para outras regiões do mundo (BARBIERI e STUMPF, 2008). A eficácia e segurança terapêutica de espécies vegetais dependem da sua qualidade, sofrendo influência de diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, exigindo a obediência às condições ideais de cultura, colheita, secagem, estabilização, manufatura, conservação e armazenamento (AMARAL et al., 2003). Microrganismos potencialmente patogênicos, tais como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* podem ser encontrados no ambiente e consequentemente nos vegetais.

A *Escherichia coli* pertence ao grupo das bactérias coliformes e é empregada como indicadora de contaminação de origem fecal. Os fungos, encontrados especialmente em alimentos secos armazenados, como os chás, aparecem quando o material está com teor de umidade acima do ideal ou se o local de armazenagem não está suficientemente arejado e seco. Muitos fungos, além de alterar os teores de princípios ativos, fazendo com que os produtos percam seu valor terapêutico, ainda causam doenças alergênicas e podem produzir micotoxinas (GOMES et al., 2008), cuja contaminação representa um sério problema de saúde para humanos e animais (FREIRE et al., 2007). Além disso, as micotoxinas são termoestáveis, resistindo a determinados tratamentos térmicos ou processos de desidratação que são suficientes para destruir o micélio vegetativo dos fungos que as produziram (MOLIN e VALENTINI, 1999 apud MAZIERO e BERSOT, 2010).

A *Staphylococcus aureus* é conhecida pelo envolvimento em casos ou surtos de intoxicação ocasionados pela ingestão de alimentos contendo enterotoxinas termoestáveis produzidas por essa

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

bactéria (IARIA et al., 1980). As mãos funcionam como veiculação desse microrganismo e as fossas nasais representam uma fonte importante na sua disseminação. Dessa forma, os portadores nasais podem, por meio das mãos, desempenhar papel importante na disseminação do microrganismo, principalmente através dos alimentos por eles manuseados (RADDI et al., 1988).

Dentre as espécies de plantas com propriedades terapêuticas mais utilizadas pela população encontra-se a marcela (*Achyrocline satureioides* (LAM.) DC.), possuindo grande importância dentro do universo de espécies medicinais de intenso uso popular na Região Sul do Brasil. A utilização de suas inflorescências está relacionada principalmente a problemas do trato digestivo e estados inflamatórios (IKUTA e BARROS, 1996; TEIXEIRA e BASSANI, 1997). É uma planta nativa de campos de áreas abertas do Sul e Sudeste do Brasil e cresce espontaneamente em pastagens e beiras de estradas, sendo considerada pelos agricultores como “planta daninha” (LORENZI e MATOS, 2008). No Rio Grande do Sul há a tradição da colheita da marcela na Sexta-Feira Santa, antes do sol nascer, pois acredita-se que a colheita nesse dia traga mais eficiência ao chá das flores (MOTA, 2008). A Lei nº 11.858, de dezembro de 2002 (RS, 2002) instituiu a *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. como Planta Medicinal Símbolo do Estado do Rio Grande do Sul e consagra seu uso popular.

Dessa forma, justifica-se a importância do trabalho com análise microbiológica de amostras de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. comercializadas na região noroeste Rio Grande do Sul. Trata-se de resultados preliminares de um trabalho que aborda a qualidade microbiológica desta planta medicinal devido à potencialidade de contaminação da mesma, considerando sua origem natural.

METODOLOGIA

As amostras foram coletadas diretamente em seus pontos de venda, sendo colocadas em sacos plásticos estéreis com lacre na ponta e identificadas. Ao final da coleta, as amostras foram transportadas até o laboratório de microbiologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – Palmeira das Missões para serem processadas.

Foram feitas análises para coliformes totais e termotolerantes, aeróbios mesófilos, fungos e *Staphylococcus aureus*. A Resolução RDC nº 12/2001 estabelece padrões microbiológicos sanitários para alimentos e, para o grupo “chá e produtos similares, não obtidos por processamento térmico (secos, desidratados ou não), consumidos após tratamento térmico (infusão e decocção), com ou sem adição de açúcar e outros ingredientes”, exige apenas ausência de *Salmonella* para 25 g. No entanto, a *Salmonella*, bactéria de ampla ocorrência em animais e causadora de complicações denominadas salmoneloses, geralmente é contraída através do consumo de carne bovina, carne de aves, ovos e leite (SILVA et al., 2010). Portanto, não foi realizada análise para essa bactéria, sendo investigada a presença de indicadores de contaminação ambiental e manipulação.

Os procedimentos foram realizados de acordo com o Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA et al., 2010). Foram pesadas 10 g de cada amostra para diluição em 90 ml de Água Peptonada. Em sacos estéreis, as amostras foram homogeneizadas em *stomacher* por 2 minutos. Foi transferido 1 ml dessa diluição para um tubo com 9 ml de água peptonada, resultando na diluição 10^{-2} . Em seguida, 1 ml dessa última diluição foi transferido para

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

um tubo de com 9 ml de água peptonada, resultando na diluição 10^{-3} .

Para contagem total de aeróbios mesófilos, utilizou-se Ágar Padrão para Contagem (PCA). Em triplicata, realizou-se a inoculação por plaqueamento em superfície, utilizando 0,1 ml de cada diluição. Após 48h de incubação a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, foi feita a contagem das UFC. Para contagem de fungos, o mesmo procedimento foi realizado, porém em meio Ágar Batata Dextrose com Ácido Tartárico a 10%; incubação por 5 dias a $22-25^{\circ}\text{C}$.

A contagem de coliformes foi desenvolvida a partir do método APHA do Número Mais Provável (NMP). As diluições foram inoculadas em uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), adicionando 1 ml da diluição por tubo com 10 ml de LST. Após incubação de 48h a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, a partir dos tubos de LST com produção de gás, foi transferida uma alçada de cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e outra para tubos de Caldo *E. coli* (EC). Tubos VB foram incubados a 35°C por 24h e tubos EC foram incubados por 24h em banho-maria a $45,5^{\circ}\text{C}$. O número dos tubos de VB com crescimento e produção de gás, confirmativos da presença de coliformes totais foi anotado para determinar o NMP e o mesmo realizou-se para o número de tubos de EC com produção de gás, confirmativo da presença de coliformes termotolerantes.

Para a contagem de *Staphylococcus aureus* foi utilizado o Ágar Manitol. Foi transferido 0,1 ml de cada diluição para placas com Ágar Manitol. Após incubação a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 45h, as colônias típicas foram transferidas para o tubos com 3 ml de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI). A partir dos tubos de BHI, após 18h de incubação a $35-37^{\circ}\text{C}$, foi realizado o teste da coagulase, utilizando 0,2 ml do Caldo BHI para 0,5 ml de Plasma de Coelho com EDTA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o presente momento foram processadas três amostras de marcela da região Noroeste do Rio Grande do Sul. Todas vendidas em feiras ambulantes. Os resultados obtidos na contagem dos microrganismos estão representados na Tabela 1.

A amostra 1 foi a única que apresentou coliformes totais e termotolerantes. A presença de coliformes totais indica contaminação fecal (SILVA et al., 2010).

Mesófilos e fungos estão dentro dos limites permitidos pela Farmacopeia Brasileira (máximo de 10^7 UFC/g para bactérias e 10^4 UFC/g para fungos, para plantas que passarão por tratamento que pode reduzir o número de microrganismos como o uso de água fervente).

Os limites microbianos para todos os produtos não estéreis citados na Farmacopeia Brasileira estipulam ausência de *Staphylococcus aureus*. Nesse sentido, as amostras do presente estudo estão dentro das normas, visto que foram coagulase negativa.

Tabela 1 - Contagem de microrganismos em amostras de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC.

Amostra	C. totais (NMP/g)	C. termot. (NMP/g)	Mesófilos (UFC/g)	Fungos (UFC/g)	<i>S. aureus</i> (UFC/g)
A1	28	120	$2,6 \times 10^2$	-	Ausente
A2	Ausente	Ausente	$1,1 \times 10^4$	$4,4 \times 10^3$	Ausente

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

A3 Ausente Ausente $2,8 \times 10^5$ $1,8 \times 10^3$ Ausente

Procedimentos inadequados de colheita e pós-colheita são determinantes para contaminação microbiológica (GOMES et al., 2008). Devido a qualidade apresentada pelas amostras podemos inferir que o mecanismo de colheita aplicado foi eficaz em termos de contaminação, bem como a conservação adequada do produto até ser comercializado.

Apesar dos resultados não demonstrarem contaminação acima do permitido, a infusão, ou seja, verter água fervente sobre a planta medicinal, tapar o recipiente para que não se percam as essências voláteis e aguardar alguns minutos, segundo Verdi et al. (2013), pode resultar em contaminação ainda menor, visto que a água fervente auxilia na eliminação dos microrganismos. No entanto, os autores ainda mencionam que isto depende das condições empregadas no processo de infusão. Além disso, algumas micotoxinas são estáveis nos processos que envolvem altas temperaturas (SIMÃO, 2010), podendo permanecer ativas após a infusão.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras, apesar de não possuírem fiscalização, cumpriram os requisitos da Farmacopeia Brasileira para microrganismos indicadores de contaminação ambiental e por manipulação. Assim, a partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que os produtos comercializados por feirantes e vendedores ambulantes apresentam qualidade microbiológica, atendendo especificações e critérios compreendidos pela Farmacopeia Brasileira. Mais amostras serão analisadas, abrangendo outras regiões do estado.

Palavras-chave: medicinal, contaminação, *Staphylococcus aureus*, coliformes.

Keywords: medicinal, contamination, *Staphylococcus aureus*, coliforms.

REFERÊNCIAS

AMARAL, F. M. M.; COUTINHO, D. F.; RIBEIRO, M. N. S.; OLIVEIRA, M. A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/Maranhão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 27-30, 2003.

BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, 914 p.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: . Acesso em: 15 jun 2017.

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. **Micotoxinas:** importância na alimentação e na saúde humana e animal. Fortaleza, CE: Embrapa Agroindustrial Tropical, 2007, 48 p.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B.; ELPO, E. R. S. Determinação da qualidade microbiológica e físico-química de chás de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (capim-limão). **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 30, n. 1, p. 47-54, 2008.

IARIA, S. T.; FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico nas fossas nasais de manipuladores de alimentos em hospitais, São Paulo, 1976. **Revista de Saúde Pública**, v. 14, n. 1, p. 93-100, 1980.

IKUTA, A. R. Y.; BARROS, I. B. I. Influência da temperatura e da luz sobre a germinação de marcela (*Achyrocline satureioides*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 859-862, 1996.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 2ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.

MOTA, F. M. **Atividade antibacteriana in vitro de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. - Asteraceae - ("macela", "marcela") como fator de proteção em zoonoses**. 2008. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2008.

RADDI, M. S. G.; LEITE, C. Q. F.; MENDONÇA, C. P. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista de saúde pública**, p. 36-40, 1988.

RIO GRANDE DO SUL. Lei nº 11.858, de 5 de dezembro de 2002. Institui a Marcela Planta Medicinal Símbolo do Estado do Rio Grande do Sul e dá outras providências. Palácio Piratini, Porto Alegre.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. 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 e Água**. 4ª ed., São Paulo: Livraria Varela, 2010.

Evento: XXV Seminário de Iniciação Científica

SIMÃO, V. **Avaliação da qualidade de alimentos para aves de companhia quanto ingredientes, corantes artificiais, fungos e micotoxinas.** 2010. 194 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2010.

TEIXEIRA, H. F.; BASSANI, V. L. Avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos sobre características físicas, químicas, tecnológicas e farmacológicas de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.-Compositae-Marcela. **Caderno de Farmácia**, v. 13, n. 2, p. 151-152, 1997.

VERDI, S.; YOUNES, S.; BERTOL, C. D. Avaliação da qualidade microbiológica de cápsulas e chás de plantas utilizadas na assistência ao tratamento da obesidade. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.4, p.494-502, 2013.