



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS CERRO LARGO - RS

CURSO DE AGRONOMIA

ROBSON LUIS PAULUS

CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM AMOSTRAS DE CHÁS COMERCIAIS

CERRO LARGO – RS

2021

ROBSON LUIS PAULUS

CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM AMOSTRAS DE CHÁS COMERCIAIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Fronteira Sul, como parte das exigências do Curso de Agronomia para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Machado de Mello

CERROLARGO – RS

2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Paulus, Robson Luis

Contaminação microbiológica em amostras de chás comerciais / Robson Luis Paulus. -- 2021.
39 f.:il.

Orientador: Doutorado em Agronomia Anderson Machado de Mello

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Cerro Largo, RS, 2021.

1. chás. 2. Aspergillus sp.. 3. Penicillium sp.. 4.
rhizopus sp.. 5. Contaminação. I. Mello, Anderson
Machado de, orient. II. Universidade Federal da
Fronteira Sul. III. Título.

ROBSON LUIS PAULUS

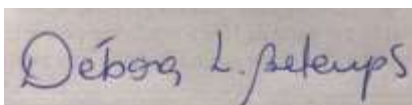
CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM AMOSTRAS DE CHÁS COMERCIAIS

Trabalho de conclusão de curso de graduação,
apresentado ao curso de Agronomia da Universidade
Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção
do título de Bacharel em Agronomia

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

12/05/2021

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr^a Debora Leitzke Betemps

Membro da Banca



Prof. Dr. Nerisson Luis Poersh

Membro da Banca



Prof. Dr. Anderson Mello

Orientador

*A minha amada mãe Inez e a meu pai Roberto (in memoriam),
pelo amor, pela educação, respeito e princípios ensinados ao
longo da vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meu orientador Prof. Dr. Anderson Machado de Mello, pelo aceite em orientar na elaboração deste trabalho de conclusão de curso, sua disponibilidade de atenção, recursos e apoio.

A professora e coordenadora do curso de Agronomia – Bacharelado, Juliane Ludwig, pelos ensinamentos ao longo dos anos, seus esforços e principalmente o apoio, destinados nesta reta final da graduação.

A todos os docentes do curso de Agronomia e demais cursos envolvidos na vivência acadêmica, pelo profissionalismo e dedicação a nos passar seus conhecimentos e experiências, que serão de grande valia no decorrer da vida profissional que se inicia.

Aos demais profissionais, que fazem parte do cotidiano da Universidade Federal da Fronteira Sul, pelos esforços e serviços prestados em zelar pela qualidade da instituição.

Aos familiares que sempre foram a base de tudo, sempre importantes na formação pessoal, com seus incentivos e preocupações sobre mim perante a vida.

A meus colegas em especial, pela amizade, companheirismo nas demais fases vividas e compartilhadas no decorrer dos anos de formação.

A meu supervisor do estágio Fabrício Lubini, pelos ensinamentos, experiências, momentos vividos nesta fase tão importante do acadêmico.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta etapa.

A Deus pela vida, e por permitir que chegasse até onde cheguei até então.

Obrigado!

RESUMO

A utilização de plantas medicinais em seus derivados como chás, visando prevenção ou tratamento de enfermidades, é uma das práticas mais antigas da sociedade, que cresce nos dias atuais pela busca de tratamentos alternativos ou mesmo pela crença ancestral. Medicamentos fitoterápicos constituem uma grande cadeia produtiva, desde sua produção até a sua comercialização junto ao consumidor, e neste processo produtivo, que envolve inúmeras fases, a qualidade do produto é suma importância quando se trata de material de consumo. Visando determinar a qualidade microbiológica dessas plantas medicinais, as amostras foram levadas ao laboratório para análises de verificação de incidência de fungos e posterior identificação dos mesmos. Foram analisados seis diferentes espécies de chás, de marcas variadas, onde o total de 59,1% dos fragmentos avaliados, apresentaram desenvolvimento de estruturas fúngicas, deste valor, 75,4% foram do gênero *Rhizopus* sp., 22,5 % *Aspergillus* sp e 2,1% representando *Penicillium* sp.

Palavras chaves: chás, fitoterápicos, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Rhizopus* sp., micotoxicose.

ABSTRACT

The use of medicinal plants in their derivatives as teas, aiming at the prevention or treatment of illnesses, is one of the oldest practices in society, which grows nowadays by the search for alternative treatments or even by ancestral belief. Herbal medicines constitute a large productive chain, from their production to their sale to the consumer, and in this production process, which involves numerous phases, the quality of the product is of paramount importance when it comes to consumables. In order to determine the microbiological quality of these medicinal plants, the samples were taken to the laboratory for analysis to verify the incidence of fungi and their subsequent identification. Six different types of teas, of different brands, were analyzed, where the total of 59.1% of the fragments evaluated showed the development of fungal structures, of this value, 75.4% were of the genus *Rhizopus* sp., 22.5% *Aspergillus* sp and 2.1% representing *Penicillium* sp.

Key words: teas, herbal medicines, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Rhizopus* sp., Mycotoxicosis.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1	FITOTERAPIA	13
3.2	POLÍTICAS REGULAMENTADORAS	15
3.3	MATÉRIA-PRIMA E QUALIDADE DO PRODUTO	16
3.4	CONSUMO E IMPLICAÇÕES	17
3.5	MICOTOXIDADE E SEUS MECANISMOS	18
3.5.1	Aflatoxinas	20
3.5.2	Ocratoxinas	21
3.6	ANÁLISES	21
4	METODOLOGIA.....	24
4.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1.1	Amostras.....	24
4.1.2	Preparo das amostras.....	25
4.1.3	Análises das amostras.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
7	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

É dos tempos mais longínquos da sociedade, que chás dentre outros derivados de plantas medicinais, são utilizados em tratamentos de enfermidades pelos seres humanos, e na atualidade, grande parte da população de inúmeros países em desenvolvimento, utiliza esse tratamento como base no enfrentamento de doenças (CARVALHO *et al.*, 2009).

O chá tem seu consumo reconhecido mundialmente, cada país com suas tradições oriundas de sua cultura, sendo consumido como bebida de caráter benéfico a saúde. Majoritariamente, seu preparo é realizado na forma de infusão de partes de plantas adicionando água quente, onde cada variedade conforme o processo utilizado, define seu sabor e aroma, podendo ser com ou sem fermentação, tostado ou não, ainda podendo haver adição de aroma e especiarias (INMETRO, 2009).

Este consumo de plantas medicinais cresce constantemente, devido a fatores como o aumento do custo de medicamentos industrializados, os efeitos colaterais que os mesmos podem causar, bem como pelo senso comum ou modismo (FALKOWSKI *et al.*, 2009). Outra indicação desse aumento pode se dar pela não necessidade de prescrição médica.

Produtos originários de infusões representam cerca de 40% do mercado de bebidas não alcoólicas do mercado mundial, por outro lado, a nível de mercado nacional, o consumo apresenta números bem abaixo dos países mais desenvolvidos, onde o consumo médio fica em torno de 0,3 litros por pessoa ao ano (CARNEIRO; VALENTINI, 2018).

Grande parte dos produtores, não atendem as especificações e cuidados nas etapas do processo de produção da matéria-prima ou do produto final de qualidade, além de não ter um acompanhamento técnico profissional da área (ZARONI *et al.*, 2004).

Segundo Garbin *et al.* (2013), é de suma importância ressaltar a possibilidade de conter nas drogas vegetais, a presença de fungos e bactérias originários do solo, presentes na microfauna da planta, ou nos processos mal realizados de colheita, envase e armazenamento, onde pode ocorrer a intensificação do desenvolvimento destes microrganismos.

Ressalta-se que plantas medicinais e seus derivados são capazes de promover efeitos colaterais semelhantes aos proporcionados por medicamentos sintéticos industrializados, com isso vem à tona, a preocupação com o consumo indiscriminado destes produtos, muito pela crença popular de que seus efeitos, são totalmente benéficos, sem risco a saúde. Mas, estudos toxicológicos mostram que a casos de intoxicação pelo uso de plantas medicinais, casos estes, agravados em idosos, gestantes, crianças, portadores de doenças crônicas que fazem o uso das mesmas, paralelamente a outras medicações, interações medicamentosas podem causar maior potencial tóxico (BRAGHINI *et al.*, 2015).

Estudos e pesquisas a nível de Brasil, em relação ao uso não prejudicial à saúde de plantas medicinais e fitoterápicos, ainda estão em estágios iniciais, bem como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais responsáveis, mercados públicos e lojas de produtos naturais (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

Diante deste cenário, estima-se que há um grande potencial de contaminação microbiológica destes produtos, conseqüentemente intoxicações pelos agentes, o que pode representar elevado risco a saúde pública em vista da segurança alimentar (GOMES *et al.*, 2008).

Por se tratar de material de consumo humano e de se haver a possibilidade iminente de presença fúngica devido aos diferentes processos na condução, desde a matéria prima até o produto final, são necessários estudos através métodos que possam quantificar possíveis patógenos, assim permitindo a obtenção da melhor qualidade dos componentes dos chás.

Com isso, a presente pesquisa teve como objetivo analisar se no conteúdo de chás comerciais, há a ocorrência de contaminação microbiológica. Este assunto, condiz com a realidade de que estes produtos são disponibilizados e comercializados entre a população sem prescrição médica, e, por essa condição, devem atender aos pressupostos de qualidade e segurança dos consumidores.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se há ocorrência de microrganismos potencialmente patogênicos em chás comercializados no município de Cerro Largo/RS.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a incidência de contaminação fúngica, através da presença de mofo e bolores do conteúdo das embalagens;
- Identificar os gêneros fúngicos presentes nas amostras.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este capítulo apresenta uma contextualização em forma de revisão bibliográfica, sobre o assunto do uso de plantas medicinais através de chás, conceitos e definições, normativas e regulamentação referente à formas de preparo e consumo, boas práticas e qualidade de produtos fitoterápicos derivados de material vegetal. Após, uma abordagem sobre possíveis microrganismos potencialmente patogênicos contaminantes do material devido a situações de manipulação relacionadas ao mesmo. E por fim, principais gêneros de patógenos microbiológicos e sua capacidade toxicogênicas, suas complicações a saúde humana, e alguns parâmetros adotados para a regulamentação destes produtos quanto a qualidade microbiológica.

3.1 FITOTERAPIA

A fitoterapia refere-se ao estudo de plantas medicinais, suas propriedades e as diferentes formas de apresentação farmacêutica, sua aplicação no tratamento de enfermidades. Oriundo da escrita grega o termo fitoterapia, onde “phyton” condiz com vegetal e “terapia” tratamento, é o estudo que abrange e incentiva o desenvolvimento social e comunitário no que diz respeito a prevenção e cuidados com a saúde, sendo uma escolha “mais natural” de tratamento (SILVA, 2016).

O uso de plantas medicinais como alimento ou medicina alternativa vem desde os primórdios da civilização até os fármacos atuais, devido a algumas plantas possuírem componentes fitoterápicos, capazes de auxiliar no tratamento ou prevenção de doenças, os princípios ativos, que são constituintes de substâncias existentes na planta (SANTOS *et al.*, 2018). Uma planta medicinal é caracterizada como uma espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósito terapêutico, onde a mesma pode ser fresca ou submetida a secagem originando uma droga vegetal (BADKE *et al.*, 2019). De acordo com BRASIL (2010), droga vegetal é entendida como “[...] plantas medicinais ou suas partes, que contenham as substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta ou colheita, estabilização e secagem, íntegras, rasuradas, trituradas ou pulverizadas[...]”, bem como são produtos de venda sem prescrição

médica direcionadas ao consumidos final, e sua eficácia fica a cargo do uso tradicional e revisão de estudos literários.

Um medicamento fitoterápico é obtido exclusivamente de matérias-primas vegetais, sendo caracterizado pelo conhecimento e potencial eficácia e riscos em sua ingestão, bem como sua qualidade. A segurança e eficácia destes produtos, são propostos por meio de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações e ensaios clínicos laboratoriais, não se enquadrando como medicamento fitoterápico aquele que possua em sua composição substâncias ativas isoladas de qualquer origem, nem associação das mesmas com extratos vegetais (BISPO, 2006).

Segundo Flor; Barbosa (2015), uma planta medicinal possui, em seu material vegetal, princípios bioativos com suas propriedades profiláticas ou terapêuticas, seu uso é regulamentado pela Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, departamento que pertence a o Ministério da Saúde, que através de resoluções, coordenam o uso das chamadas drogas vegetais, regulamenta o uso de partes da das plantas medicinais: raízes, cascas, folhas, ou flores, como opção terapêutica no Sistema Único de Saúde.

A adoção de dietas que contenham plantas medicinais vem da busca pelo consumo de alimentos saudáveis, tanto na forma *in natura* ou com o mínimo de processos envolvidos, desencadeando nas empresas potencial investimento na disponibilização das mesmas em forma de chás prontos (VULCANO *et al.*, 2008). Por possuir um relativo baixo custo e facilidade na obtenção pela sociedade, as plantas medicinais vem sendo cada vez mais uma opção de recurso terapêutico em todo o Brasil (VIEIRA *et al.*, 2017). Conforme a Organização Mundial da Saúde, cerca de 80% da população mundial recorre ao uso de plantas medicinais e seus derivados, como assistência terapêutica primária no tratamento de enfermidades (FLOR; BARBOSA, 2015).

Deve-se ressaltar que uma planta medicinal ou um fitoterápico, não possui somente efeitos instantâneos relacionados a sua ingestão, mas principalmente, frisar a possibilidade de desenvolvimento de efeitos que se instalam a longo prazo no organismo, geralmente de forma assintomática, como os carcinogênicos, hepatotóxicos e nefrotóxicos, como exemplo de casos de uso do confrei (*Symphytum officinale* L) (BISPO, 2006).

Assim, no Brasil o consumo de plantas medicinais em formas de chás é relevante, uma vez que a preocupação com a qualidade de vida acaba motivando a população a recorrer a produtos naturais. Com isso, a garantia de qualidade no setor de produção comercialização de chás é de grande importância. Existem resoluções sobre uso, diretrizes com enfoque alimentício e outros aspectos medicinais referente ao uso desses produtos (SANTOS *et al.*, 2018).

3.2 POLÍTICAS REGULAMENTADORAS

O acesso seguro das plantas medicinais e fitoterápicos é assistido pelo Decreto nº 5.813 de 2006, que aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que busca garantir o melhor desenvolvimento da cadeia produtiva e industrial, bem como qualidade e eficácia quanto as atribuições considerando o conhecimento tradicional sobre plantas medicinais, e ainda, promover pesquisas e estudos para desenvolvimento de tecnologias e inovações em plantas medicinais e fitoterápicos nas diversas fases produtivas (BRASIL, 2006). Esse Decreto se tornou decisivo para a introdução do uso de plantas medicinais e fitoterápicos, na atenção primária de saúde no Sistema Único de Saúde – SUS (SILVA, 2016).

Segundo Rocha *et al.* (2005), é notável o aumento da demanda pelo consumo de plantas medicinais, com isso, o crescimento de indústrias vem do beneficiamento e comercialização dessas plantas, tanto partes *in natura*, maceradas, como dessecadas disponibilizadas em “sachês” prontos para o uso somente com a adição de água fervente, resultando no chá.

Através da Portaria nº 519 de 26 junho 1998, a Secretaria de Vigilância Sanitária, aprova e regulamenta os padrões técnicos para a fixação de identidade e qualidade de chás, e também cita espécies de plantas destinadas ao preparo pelos processos de infusões e decocções, onde confere a definição de chá como sendo

“produtos constituídos de partes vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidas por processos tecnológicos adequados a cada espécie, utilizados exclusivamente na preparação de bebidas alimentícias por infusão ou decocção em água potável, não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas” (Brasil, 1998).

onde chás são reconhecidos como produto de gênero alimentício e não somente fitoterápico.

Já a resolução RDC nº 277 de 22 setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), traz a definição de chá como sendo:

“produto constituído de uma ou mais partes de espécie(s) vegetal(s) inteira(s), fragmentada(s) ou moída(s), com ou sem fermentação, tostada(s) ou não, constantes de Regulamento Técnico para o Preparo de Chás. O produto pode ser adicionado de aroma e ou especiaria para conferir aroma e sabor” (BRASIL, 2005).

3.3 MATÉRIA-PRIMA E QUALIDADE DO PRODUTO

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) retratam que 65 a 80% da população mundial, principalmente países em pleno desenvolvimento, apostam na eficiência de produtos oriundos de plantas medicinais no tratamento de doenças, porém, mas não levam em consideração a qualidade microbiológica dos mesmos (FREITAS; RESENDE, 2012).

Sabemos que o produto final é resultante de fatores precedentes de todo o processo de produção, assim, a fonte da matéria-prima bem como sua qualidade desempenham papel fundamental para assegurar qualidade final e estabilidade dos preparos a base de plantas. Trabalhar com plantas frescas, temperatura, exposição a luz, métodos de recolha, secagem, embalagem, idade e parte recolhida da planta, etc. afetam diretamente a qualidade e valor terapêutico do produto por serem possíveis portas de entrada para possíveis contaminações por microrganismos patogênicos. Além disso, fatores ambientais no período de cultivo, como atmosfera, solo, poluição de águas utilizadas na irrigação, e pós cultivo, umidade relativa do ar na secagem e estocagem, devem ser considerados no controle de qualidade quanto a contaminação microbiológica de produtos naturais. (CINTRA; FACIOLLI, 2014).

Mesmo com tecnológicos processos industriais que envolvem a produção dos chás, outros fatores podem implicar na contaminação microbiológica do produto até chegar ao consumidor final. Problemas na produção da matéria-prima, colheita, armazenamento, beneficiamento, transporte e até mesmo durante a comercialização podem permitir a contaminação por agentes microbiológicos degradantes a qualidade do produto, bem como nocivos à saúde humana (ROCHA *et al.* 2005).

Processos de pré-produção, bem como de acondicionamento e armazenamento do material vegetal que será direcionado a produção dos chás, realizados de forma inadequada, juntamente com fungos e bactérias pré-existentes associados a presença de umidade, acarretam em maior proliferação dos microrganismos (FIRMINO, 2011).

Ressalta-se também, que a quantidade excessiva de água em drogas vegetais, auxilia no desenvolvimento indesejado de microrganismos, insetos e hidrólise, e com isso, a deterioração de seus constituintes. A secagem do material vegetal logo após a colheita é um trato essencial para se evitar depreciações, indicando-se que a secagem seja conduzida de forma gradual, até que sejam alcançados os teores ideais para um armazenamento seguro, ou seja, algo em torno 8 a 14% (GARBIN *et al.*, 2013).

A importância da necessidade de acompanhamento e orientação especializada na área quanto ao cultivo e manipulação correto das plantas medicinais, além de ser a complementação do conhecimento popular junto ao científico, é fundamental para a segurança e eficácia dos produtos (FLOR; BARBOSA, 2015).

Segundo Santos *et al.* (2018), a comercialização de plantas medicinais perante a população, é feita na forma seca e fragmentada, majoritariamente sem controle de qualidade, o que foge do padrão de qualidade imposto pela ANVISA, o que, por sua vez, não assegura as propriedades terapêuticas, podendo ainda conter contaminação com terra, areia, pedras, partes de outras plantas, insetos bem como fungos.

3.4 CONSUMO E IMPLICAÇÕES

O preparo dos chás varia conforme a estrutura do material vegetal a ser utilizada. Para partes com componentes mais voláteis como folhas, indica-se o método de infusão, onde aroma e degradação de princípios ativos acontecem através do contato com água (vertendo-a) sobre material, após ser aquecida por um período prolongado. Para estruturas mais lenhosas, como cascas e raízes, se utiliza o método de decocção, onde as estruturas são fervidas juntamente com a água (CARNEIRO; VALENTINI, 2018).

Segundo Hellmann; Velasquez (2017), a técnica de decocção para preparo de chás, além de extrair os princípios ativos, pode diminuir a carga microbiana através do contato dos órgãos da planta com água em ebulição, diminuindo o potencial microbiano presente nas estruturas ressaltando que, em condições de elevada carga de contaminação, a técnica não é totalmente eficaz.

Dentre os microrganismos fitopatogênicos que se desenvolvem em estruturas vegetais com maior frequência, estão a *Salmonella sp.* e *Escherichia coli*, ambas bactérias associadas a contaminação fecal (GOMES *et al.* 2008). A Salmonelose enfermidade causada bactéria *Salmonella sp.*, comumente é transmitida para o homem através do consumo de alimento de origem animal. Porém muitos surtos da enfermidade foram associados a alimentos de origem vegetal, pelo uso de esterco de aves como forma de adubação, condizendo a falta de boas práticas de manipulação e higiene (VIEIRA *et al.*, 2017). Sintomas característicos correspondentes a Salmonelose incluem, vômito, dores abdominais, febre e diarreia, que geralmente duram alguns dias

Sobre bactérias do gênero *Escherichia coli*, onde as cepas de desta bactéria, são organismos anaeróbios facultativos mesófilos, com um pH próximo do neutro que otimiza seu crescimento, Freitas e Resende (2012, p.51), destaca que

Há quatro grupos de cepas de *E. coli* comprovadamente patogênicas para o homem; *E. coli* enteropatogênica (EPEC) agente causador da diarreia infantil e do recém-nascido, *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), agente causador da diarreia aquosa semelhante à cólera, *E. coli* enteroinvasora (EIEC), responsável pela diarreia causando necrose no tecido epitelial do cólon e diarreia sanguinolenta e a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou produtora da verotoxina responsável pela colite hemorrágica.

Ainda segundo, Freitas; Resende (2012), outro gênero estimulante de surtos de intoxicação alimentar é o *Staphylococcus aureus*, bactérias mesófilas com temperatura de crescimento em torno de 7 a 47,8 °C, esses surtos são provocados por alimentos contaminados que se mantém expostos à mesma temperatura de crescimento do microrganismo, que possui período de incubação variando entre 30 minutos a 8 horas após a ingestão do produto contaminado. Este microrganismo contém toxinas resistentes a tratamento térmico de alto impacto, como a

esterilização de alimentos de baixa acidez, e tem como portas de entrada para contaminação as fossas nasais e contanto com as mãos (MARTINS *et al.* 2019).

Outro problema, são as condições climáticas típicas de países tropicais e subtropicais, condições que favorecem o crescimento de fungos, posição onde se enquadra o Brasil, que possui ótimas condições ambientais para a produção de alimentos de origem agrícolas e conseqüentemente, também, fungos que podem ser dispersos pelo ar atmosférico, onde, então, as condições climáticas e agrícolas e práticas de armazenamento podem potencializar o desenvolvimento de fungos micotoxigênicos (CINTRA; FACIOLLI, 2014)

A ocorrência de mofos ou bolores em produtos secos armazenados, como os chás, é frequente, muito pela sua característica higroscópica, que potencializa o desenvolvimento destes microrganismos, quando o material apresenta teores de umidade elevado e encontra-se em ambiente mal arejado. Muitos destes fungos além da deterioração dos princípios ativos, que diminuí a qualidade terapêutica do produto, são causadores de doenças alergênicas e ainda responsáveis pela liberação de micotoxinas potencialmente fitopatogênicas (GOMES *et al.*, 2008).

3.5 MICOTOXIDADE E SEUS MECANISMOS

Metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos, conhecidas como micotoxinas, estão presentes no interior das estruturas dos fungos como esporos e micélios, que quando liberados, causam intoxicações em organismos como de homens e animais (BORGES *et al*, 2002). O principal meio de exposição a micotoxinas é via oral, diretamente do consumo de alimentos contaminados, há também, com bem me nos frequência, a contaminação via dermatológica.

Mesmo com processo de preparo dos chás a partir de partes das plantas medicinais, passando pelo processo de infusão ou decocção, estes alimentos podem apresentar níveis consideráveis de micotoxinas, devido a sua capacidade termoestável. Com isso, a ingestão de micotoxinas traz o risco de desenvolvimento de efeitos toxicológicos, podendo variar entre efeitos intensamente tóxicos, mutagênicos, carcinogênicos, teratogênicos ou ainda imunossupressores, isto oscilando conforme fatores, tipo e a dosagem da micotoxina, tempo e forma de exposição, suscetibilidade da espécie, e ainda ser afetado por condições genéticas e

fisiológicas do hospedeiro, como, idade, sexo, estado nutricional e imunidade, além de fatores ambientais (LIMA, 2010).

Borges *et al.* (2002), destaca a micotoxicose, intoxicação crônica, derivada de micotoxinas, a qual é passível de desencadear no organismo de animais ou seres humanos, danos no crescimento, alteração de funções do organismo e ainda evolução para tumores, tendo como sintomas característicos desse tipo de intoxicação náusea e vômito, também podendo causar ataxia e morte. A micotoxicose pode ser classificada em primária e secundária, sendo a secundária de difícil identificação, diferindo-se da primária pelos baixos níveis de toxinas nas amostras e por apresentar quadro clínico específico inferior ou ausente e ainda, apresentar suscetibilidade maior a infecções devido a imunossupressão desenvolvida pela própria toxina (LIMA, 2010).

Ainda segundo Borges *et al.* (2002), destacam-se três grupos de micotoxinas causadoras de micotoxicoses, as aflatoxinas, oriundas dos fungos do gênero *Aspergillus*, as fusariotoxinas, produzidas por fungos do gênero *Fusarium* e ocratoxinas, produzidas pelo gênero *Aspergillus alutaceus* e algumas espécies de *Penicillium*, causadoras de micotoxicoses causadoras de danos a organismos.

Neste quadro de potenciais precursores de intoxicações microbiológicas, evidenciamos os fungos do gênero *Aspergillus* sp., estes, comumente presentes no meio ambiente, sujeitos a serem inalados e causar casos de aspergilose, doença infecciosa oportunista, causadoras de problemas como lesões na pele e outros órgãos. Ocorrendo o desenvolvimento das hifas deste fungo, conseqüentemente há a possibilidade de invasão de vasos sanguíneos, acarretando em necroses hemorrágicas e dispersão para outros locais do corpo em pacientes suscetíveis, como portadores trombocitopênicos e os com quadro e insuficiência respiratória (GOMES *et al.* 2008).

3.5.1 Aflatoxinas

As aflatoxinas oriundas do gênero *Aspergillus* sp., são apontadas como umas das micotoxinas contaminantes com maior potencial tóxico e carcinogênico na indústria alimentícia. Sua ingestão pode apresentar efeitos hepatocarcinogênicos, também causar acúmulo de gordura neutra (ácidos graxos) no fígado e rins,

aumento de triglicerídeos, inflamação hepatorenal, necrose e proliferação do canal biliar (LIMA, 2010).

Ainda, segundo Lima (2010), o grande potencial de toxicidade da aflatoxina, principalmente a do tipo B1, vem em decorrência de sua rápida absorção do sistema gastrointestinal, o que facilita a entrada na circulação sanguínea, utilizando a mesma como a via de transporte, assim chegando ao fígado e outros órgãos.

3.5.2 Ocratoxinas

Mais um grupo de toxinas potencialmente nocivas a saúde humana, ficando atrás somente das aflatoxinas, as ocratoxinas são produzidas pelo gênero *Aspergillus alutaceus* e algumas espécies de *Penicillium* (BORGES *et al*, 2002). A ocratoxina A, oriunda principalmente do gênero *Penicillium*, é a que possui maior potencial tóxico deste grupo, constitui cerca de seis compostos, onde apresenta atividades nefrotóxicas, hepatotóxicas, imunotóxicas, teratogênicas, citotóxica e possivelmente carcinogênicas além de genotóxicas, mas sua maior característica se trata da redução das funções renais.

3.6 ANÁLISES

Conforme a resolução RDC nº 12 da ANVISA de 2001, a regulamentação sobre agentes microbiológicos em alimentos, referente a chás e produtos similares, consumidos após processos térmicos de infusão e decocção com ou sem adição de demais ingredientes, apresenta limites de tolerância para bactérias como *Salmonella* sp. e coliformes, porém não abrange estudos ou limites sobre fungos (BRASIL, 2001).

Já na resolução RDC nº10 da ANVISA de 2010, onde na Seção III, Art. 8º, que abrange sobre a notificação e produção de drogas vegetais, ressalta critérios a serem seguidos por fabricantes de drogas vegetais, que passarão por algum processo extrativo a quente, como preparo via infusão e decocção, entre os critérios estão os resultados de testes de qualidade a serem apresentados no momento da notificação. Quanto a contaminantes microbiológicos, adotam-se os seguintes parâmetros para a notificação:

- Bactérias aeróbicas máximo de 10^7 UFC por grama;
- *Escherichia coli*. máximo de 10^2 UFC por grama;
- Fungos: máximo de 10^4 UFC por grama;
- Outras enterobactérias: máximo de 10^4 UFC por grama;
- *Salmonella*: ausência.

Referente a fungos, não delimita parâmetros quanto a gêneros/espécies, somente limite ao total de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) (BRASIL, 2010).

No Brasil, não há um limite estabelecido quanto a micotoxinas, então padroniza-se que sejam adotados os limites da Farmacopéia Européia (BRASIL, 2013).

A qualidade é resultante do controle, e nele estão envolvidos o estudo e pesquisa, onde o principal objetivo é analisar contaminações por microrganismos, dentre os quais estão os fungos filamentosos (BUGNO *et al.*, 2005).

O aprofundamento dos estudos referente a fungos deve ser conduzido, envolvendo levantamentos qualitativos e quantitativos além da identificação dos mesmos, se tornando uma ferramenta importante para a segurança alimentar dos consumidores, uma vez que presença de microrganismos produtores de micotoxinas é nociva à saúde humana. Ressaltando, que mesmo com o processo de infusão ou cocção do produto, fungos com potencial micotoxigênico ainda podem persistir (CARVALHO *et al.*, 2009). Para a comprovação de qualidade, segurança e eficácia, se tem a necessidade de análises mais complexas, porém há falta de especificações farmacopeicas o que contribui para uma baixa qualidade dos produtos (VEIGA *et al.*, 2005).

Mesmo apresentando a maior diversidade vegetal do planeta e cultura baseada no uso de plantas medicinais, no Brasil, até o momento os esforços são mínimos para uma padronização e estabelecimento da qualidade, eficácia e segurança dessa classe de produtos (CINTRA; FACIOLLI, 2014)

Devido a fatos como estes, ressaltasse a importância de análises microbiológicas que possam ser realizadas no material vegetal, permitindo assim a obtenção de indicadores quanto a presença de patógenos ou toxinas, além de ter conhecimento das condições de higiene do ambiente de produção e processamento,

bem como avaliações dos produtos conforme os padrões e especificações nacionais e internacionais (SANTOS *et al.*, 2018).

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAL E MÉTODOS

As análises ocorreram no Laboratório 2, da Universidade Federal da Fronteira Sul, no *campus* Cerro Largo, Rio Grande do Sul. Foram analisados basicamente dois parâmetros, presença, ou seja, incidência de fungos em fragmentos do conteúdo das embalagens dos chás, e identificação dos gêneros fúngicos encontrados.

4.1.1 Amostras

As amostras de chás foram obtidas junto a farmácias cadastradas junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Foram adquiridas seis espécies de material fitoterápico diferentes e de marcas variadas (Tabela 1), todas amostras em material plástico a granel, com produção no ano de 2021 e validade comercial vigentes os chás, sendo obtidos em triplicata por material afim de evitar lotes danificados.

Tabela 1 – Espécies de chás, respectivos nomes científicos e marca adquirida.

Nome Popular	Nome científico	Marca A	Marca B	Marca C	Marca D
Endro	<i>Anethum graveolens</i>	X			
Erva Doce	<i>Pimpinella anisum</i>		X		
Funcho	<i>Foeniculum vulgare</i>			X	
Hibisco	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>			X	
Camomila	<i>Matricaria chamomilla</i>			X	
Amora Branca	<i>Morus alba</i>				X

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

A escolha das espécies vegetais de chás a serem analisadas teve como critério o maior consumo e comercialização entre a população local.

Para análise descritiva do experimento, cada espécie de material fitoterápico representou um tratamento, totalizando seis tratamentos, e para cada tratamento foi

realizada quatro repetições (Tabela 2), totalizando vinte e quatro unidades experimentais.

Tabela 2 – Tratamentos e seus respectivos chás e repetições:

Tratamento	R1	R2	R3	R4
T1 – Endro	T1r1	T1r2	T1r3	T1r4
T2 – Erva doce	T2r1	T2r2	T2r3	T2r4
T3 – Funcho	T3r1	T3r2	T3r3	T3r4
T4 – Hibisco	T4r1	T4r2	T4r3	T4r4
T5 – Camomila	T5r1	T5r2	T5r3	T5r4
T6 – Amora B.	T6r1	T6r2	T6r3	T6r4

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

4.1.2 Preparo das amostras

A determinação da presença de microrganismos, especificamente fungos, foi realizada através de um adaptado do método do papel filtro (Blotter test), realizando a incubação das estruturas dos chás em caixas do tipo Gerbox, em um período em câmara de germinação tipo BOD (HENNING, 2015).

Primeiramente, para o preparo das amostras foram utilizadas caixas do tipo Gerbox plásticas previamente lavadas com água e detergente líquido e após desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1% e deixadas em temperatura ambiente para a secagem.

Para a superfície no interior das caixas Gerbox onde os materiais dos chás foram depositados, utilizou-se duas folhas de papel Germitest, umedecidos com água destilada.

As triplicatas de cada tipo de chá foram misturadas em um único recipiente visando à homogeneização das mesmas em uma única amostra. Para o preparo das amostras, com o auxílio de uma pinça metálica, foram coletados, aleatoriamente, 10 fragmentos da amostra e distribuídos na superfície do papel Germitest umedecido dentro das caixas. As estruturas dos materiais do conteúdo das amostras variaram entre sementes, caules, flores e folhas conforme o tipo de chá (Figura 2).

Figura 1. Exemplo de 10 fragmentos chá Camomila, tipo: flores e caule, depositados e caixa Gerbox.



Fonte: Autor, 2021.

4.1.3 Análises das amostras

Após os fragmentos serem depositados nas caixas de germinação, estas foram fechadas com as tampas sendo vedadas com filme plástico e identificadas conforme o tratamento, e, encaminhadas para câmara de incubação. Na BOD, as caixas contendo as amostras permaneceram em temperatura de 20°C durante o período de incubação. A cada dois dias foi feita a verificação de presença de estruturas fúngicas, e também o monitoramento da umidade do papel Germitest, realizando a reposição de água destilada quando necessário com auxílio de pisseta, sempre evitando molhamento dos fragmentos dos chás.

Após sete dias da instalação do experimento, foram realizadas as análises quanto a incidência de fungos, quando presente, a identificação do fungo. Para tanto utilizou-se um microscópio estereoscópico da marca Olympus para melhor visualização das estruturas dos patógenos, facilitando sua identificação. Os resultados obtidos foram registrados em tabela eletrônica para posterior interpretação.

Figura 2. Amostra no microscópio estereoscópico para análise e identificação dos fungos.



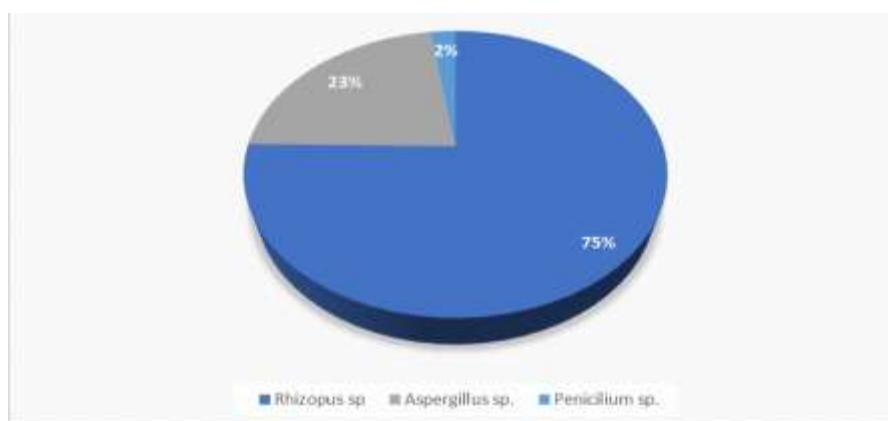
Fonte: Autor, 2021.

A porcentagem de incidência (%IP), foi obtida após a contagem do número de fragmentos contaminados em cada repetição, obtendo então uma média das quatro repetições, e a partir desta média através de uma regra de três se têm a porcentagem de incidência de patógeno. Exemplo: média = $3,0 \times 100 / 10 = 30\%$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos fragmentos dos chás analisados após o sétimo dia da implantação do experimento, no total de 240 fragmentos analisados, 142 apresentaram desenvolvimento de estruturas fúngicas, equivalente a 59,1% dos fragmentos, sendo identificados, três diferentes gêneros de fungos, *Rhizopus* sp. (n=107), *Aspergillus* sp. (n=32) e *Penicillium* sp. (n=3) (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Panorama geral do percentual de incidência de patógeno, por gênero fúngico, nos fragmentos contaminados.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Segundo estudos de Carvalho *et al.* (2009), onde foram analisadas amostras de camomila, erva-mate e erva doce, do total de fungos presentes e identificados, 35,9% representaram fungos do gênero *Aspergillus* sp., 11,5% do gênero *Rhizopus* sp. e 9,4% eram *Penicillium* sp. Fungos com potencial micotoxigênico, em casos de elevada contaminação, os processos de preparo como a infusão e decocção não são totalmente eficazes para eliminar a carga microbiana.

A partir das análises do experimento, em sua maioria, as amostras apresentaram desenvolvimento de diferentes estruturas de gêneros fúngicos. A RDC nº10 da ANVISA de 2010, não delimita parâmetros de presença aceitável, quanto a gêneros/espécies para a notificação de uma droga vegetal, somente um limite total em Unidade Formadoras de Colônias (UFC), assim como não há limites para micotoxinas. Pelos índices obtidos através dos resultados das análises, presume-se níveis possivelmente nocivos e fora das conformidades à saúde dos consumidores dessas marcas de chás.

Na análise realizada com o chá de endro (Tabela 3 e Figura 3), é possível notar que o fungo *Aspergillus* sp. esteve presente em todas as repetições dessa amostra, atingindo a maior incidência dentre os gêneros fúngicos identificados. Ainda, foi observado a presença do fungo *Rhizopus* sp. em três repetições. Por outro lado, não se observou a presença de *Penicillium* sp. em nenhum dos fragmentos analisados.

Tabela 3. Incidência e porcentagem de incidência (%IP) de diferentes fungos nas diferentes repetições da amostra de chá de endro.

Patógeno	R1	R2	R3	R4	Média	%IP*
<i>Rhizopus</i> sp.	0	1	2	1	1,0	10%
<i>Aspergillus</i> sp.	6	3	2	1	3,0	30%
<i>Penicillium</i> sp.	0	0	0	0	0,0	0%

*Porcentagem de incidência de patógeno. Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 4. Estruturas fúngicas em fragmentos de chá de endro. Fragmento sem presença de contaminação fúngica (esquerda) e com presença de *Aspergillus* sp. e *Rhizopus* sp. (direita).



Fonte: Autor, 2021.

Quando analisada a incidência de fungos nos fragmentos de chá de erva doce (Tabela 4 e Figura 4), observou-se maior incidência do fungo *Rhizopus* sp., desenvolvendo-se em todas as repetições. O fungo *Aspergillus* sp. com menor

incidência, esteve presente em três repetições, já o gênero *Penicillium* sp. não foi observado em nenhuma das repetições.

Tabela 4. Incidência e porcentagem de incidência (%IP) de diferentes fungos nas diferentes repetições da amostra de chá de erva-doce.

Patógeno	R1	R2	R3	R4	Média	%IP*
<i>Rhizopus</i> sp.	7	8	9	7	7,75	77,5%
<i>Aspergillus</i> sp.	3	2	0	2	1,75	17,5%
<i>Penicillium</i> sp.	0	0	0	0	0,0	0%

*Porcentagem de incidência de patógeno. Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 5. Estruturas fúngicas em fragmentos de chá de erva doce. Fragmento sem presença de contaminação fúngica (esquerda) e com estruturas de *Rhizopus* sp. e *Aspergillus* sp. (direita)



Fonte: Autor, 2021.

Foi observado os fragmentos de chá de funcho (Tabela 5 e Figura 5), e verificou-se em todas as repetições a presença de estruturas de fungos do gênero *Rhizopus* sp., apresentando maior incidência. Também foi possível notar a presença

do fungo *Aspergillus* sp. com menor incidência, e, não sendo observado desenvolvimento do gênero *Penicillium* sp. em nenhuma das repetições.

Tabela 5. Incidência e porcentagem de incidência (%IP) de diferentes fungos nas diferentes repetições da amostra de chá de de funcho.

Patógeno	R1	R2	R3	R4	Média	%IP*
<i>Rhizopus</i>	4	7	5	3	4,75	47,5%
<i>Aspergillus</i> sp.	0	2	2	1	1,25	12,5%
<i>Penicillium</i> sp.	0	0	0	0	0,0	0

*Porcentagem de incidência de patógeno. Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 6. Estruturas fúngicas em fragmentos de chá de funcho. Fragmento sadio (esquerda), com *Aspergillus* sp (centro) e *Rhizopus* sp. (direita).



Fonte: Autor, 2021.

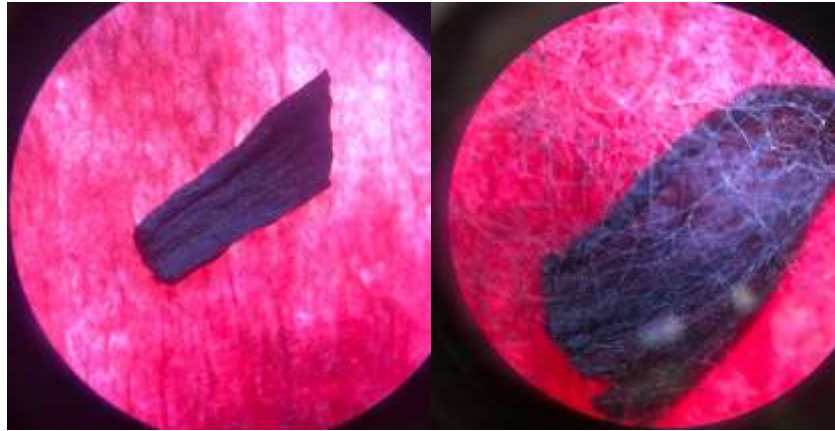
Na análise de incidência realizada no chá de hibisco (Tabela 6 e Figura 6), foi verificado o desenvolvimento apenas de estruturas fúngicas do gênero *Rhizopus* sp., sendo este presente em todas as repetições.

Tabela 6. Incidência e porcentagem de incidência (%IP) de diferentes fungos nas diferentes repetições da amostra de chá de hibisco.

Patógeno	R1	R2	R3	R4	Média	%IP*
<i>Rhizopus</i>	2	3	2	3	2,5	25%
<i>Aspergillus</i> sp.	0	0	0	0	0,0	0%
<i>Penicillium</i> sp.	0	0	0	0	0,0	0%

*Porcentagem de incidência de patógeno. Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 7. Estruturas fúngicas em fragmentos de chá de hibisco. Fragmento sadio (esquerda) e com estruturas fúngicas de *Rhizopus* sp.



Fonte: Autor, 2021.

Quando analisado as repetições no chá de camomila (Tabela 7 e Figura 7), constatou-se presença do fungo *Rhizopus* sp. em todas essas, sendo o gênero com maior incidência entre identificados. Adicionalmente, observou-se a presença do fungo *Aspergillus* sp. mesmo que em baixa incidência.

Tabela 7. Incidência e porcentagem de incidência (%IP) de diferentes fungos nas diferentes repetições da amostra de chá de camomila.

Patógeno	R1	R2	R3	R4	Média	%IP*
<i>Rhizopus</i>	1	5	5	5	4,0	40%
<i>Aspergillus</i> sp.	0	1	1	0	0,5	0,05%
<i>Penicillium</i> sp.	0	0	0	0	0,0	0%

*Porcentagem de incidência de patógeno. Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 8. Estruturas fúngicas em fragmentos de chá de camomila. Fragmento sadio (esquerda) e com estruturas de *Rhizopus* sp. e *Aspergillus* sp. (direita).



Fonte: Autor, 2021.

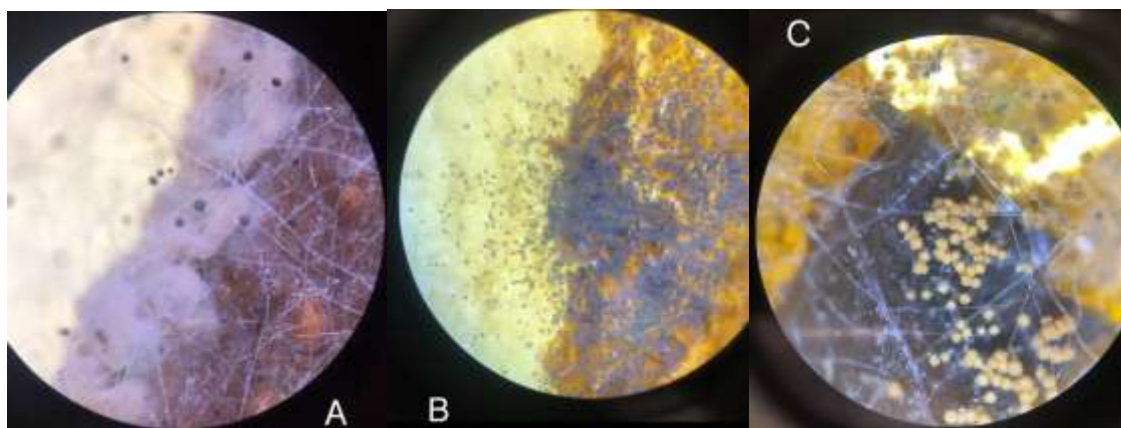
Na análise dos fragmentos do chá de amora branca (Tabela 7 e Figura 7), foi possível verificar a presença dos três gêneros de fungos, sendo o fungo *Rhizopus* sp. o que apresentou a maior incidência, observado em todas as repetições. *Aspergillus* sp. desenvolveu-se em três repetições, e, em uma das repetições o gênero *Penicillium* sp., desenvolveu suas estruturas fúngicas.

Tabela 8. Incidência e porcentagem de incidência (%IP) de diferentes fungos nas diferentes repetições da amostra de chá de Amora branca.

Patógeno	R1	R2	R3	R4	Média	%IP*
<i>Rhizopus</i>	4	8	6	9	6,75	67,5%
<i>Aspergillus</i> sp.	3	2	0	1	1,5	15%
<i>Penicillium</i> sp.	0	0	0	3	0,75	7,5%

*Porcentagem de incidência de patógeno. Fonte: Elaborador pelo autor, 2021.

Figura 9. Estruturas fúngicas em fragmentos de chá de Amora-branca. Estruturas fúngicas de: **A.** *Rhizopus* sp., **B.** *Aspergillus* sp. e **C.** *Penicillium* sp.



Fonte: Autor, 2021.

Dos gêneros identificados no presente trabalho, dois são conhecidos como fungos de armazenamento, estes com potencial nocivo à saúde humana, devido a capacidade de produzir micotoxinas. O gênero *Aspergillus* sp. produtor de aflatoxinas e ocratoxinas que tem potencial tóxico e carcinogênico e o gênero *Penicillium* sp. responsável pela produção da ocratoxina A, que dentro do grupo das ocratoxinas, detêm o maior potencial tóxico, constituindo seis compostos, onde apresenta atividades nefrotóxicas, hepatotóxicas, imunotóxicas, teratogênicas, citotóxica e possivelmente carcinogênicas além de genotóxicas, mas sua maior característica se trata da redução das funções renais (BORGES *et al*, 2002).

O outro gênero identificado, o fungo *Rhizopus* sp., está entre os agentes causais de infecções em humanos, como a mucormicose, que consiste em uma infecção oportunista grave, que neste processo, o fungo deste gênero é considerado o mais virulento. Caracterizado como oportunista e de fácil disseminação, o fungo causa a ocupação e obliteração de vasos sanguíneos, o que pode resultar em isquemia tecidual e colaborar para a neutropenia (SILVA; SOUZA, 2017)

Ainda segundo Silva; Souza (2017), algumas espécies do gênero *Rhizopus*, são capazes de sobreviver em condições extremas de temperaturas, chegando a suportar ambientes de até 82 °C por um período de 72 horas.

No trabalho realizado por Pereira (2019), onde em seus estudos foram realizadas análises de contaminação física dos mesmos materiais que foram analisados no presente trabalho, o autor relatou a presença de materiais estranhos,

e não conformidades de rotulagem das embalagens, somando isto, o mesmo destaca o fato que são produtos disponibilizados em diversos estabelecimentos comerciais e que no mercado destas drogas vegetais, há uma grande deficiência na parte de fiscalização e certificação de qualidade, desde os processos de originação da matéria – prima até chegar ao consumidor final.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como esperado, os resultados das análises demonstraram a presença de contaminação microbiológica em todos os materiais vegetais utilizados como chás utilizados no presente estudo. Foi identificado três gêneros fungicos nos fragmentos dos materiais vegetais analisados, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp e *Rhizopus* sp, dentre eles o que apresentou maior percentual de incidência foi os fungos do gênero *Rhizopus* sp., seguido de *Aspergillus* sp., e por fim fungos de *Penicillium* sp.

7 REFERÊNCIAS

BADKE, Marcio Rossato; COGO, Silvana Bastos; ILHA, Aline Gomes; HEISLER, Elisa Vanessa; SCHIMITH Maria Denise; SACRAMENTO, Henriqueta Tereza do. **Panorama brasileiro dos serviços de plantas medicinais e fitoterápicos**. Revista de Enfermagem da UFSM, vol. 9. n.64. p.1-19, nov, 2019. ISSN 2179-7692.

Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/reufsm/article/view/33655>>. Acesso em: 19 maio de 2020.

BISPO, James Romero Soares. **Avaliação das atividades toxicológicas e microbiológicas de chás industrializados**. Dissertação programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia – Universidade Federal de Alagoas.

Disponível em: <<http://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/2497>>. 30 mai., 2006. Acesso em: 15 jun., 2020.

BORGES, Larissa Rolim; PIMENTEL, Ida Chapaval; BEUX, Marcia Regina, TALAMINI, Anelise. **Contagem de fungos no controle de qualidade da erva-mãe (*Ilex paraguariensis* St. Hil) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos**. B. CPPA, Curitiba, v. 20, n.1, p. 103-110, jan./jul., 2002.

BRAGHINI, Fernanda; SOUZA, Felipe de Oliveira; GONÇALVES, Regina Aparecida Correia; DE OLIVEIRA, Arildo José Braz; GONÇALVES, José Eduardo. **Avaliação da qualidade de plantas medicinais comercializadas na cidade de Maringá – PR**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21; p. 33113324, 2015.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 10** de 09/01/2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 mar., 2010.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 12** de 02/01/2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 jan., 2001.

BRASIL. ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **Proposta em Consulta Pública nº 35**. Proposta de Instrução Normativa que estabelece o Guia de orientação para registro de medicamentos fitoterápicos e registro e notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 06 ago. 2013.

BRASIL. ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 277** de 22/09/2005. Aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO PARA CAFÉ, CEVADA, CHÁ, ERVA-MATE E PRODUTOS SOLÚVEIS”. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 set, 2005.

BRASIL, Decreto Presidencial. **Decreto nº 5.813**. Aprova a Política de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 jun., 2006.

BRASIL, Secretária de Vigilância Sanitária/ Ministério da Saúde. **Portaria nº 519** de 26/06/1998. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de “Chás – Plantas Destinadas à Preparação de Infusões e Decocções”. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 jun., 1998.

BUGNO, Adriana; BUZZO, Adriana Aparecida; NAKAMURA, Cristina Terumi; PEREIRA, Tatiana Caldas; MATOS, Dulcinéia de; PINTO, Terezinha de Jesus Andreoli. **Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. vol. 41. N. 4, out./dez., 2005.

CARNEIRO, Ana Luiza Chrominski; VALENTINI, Sérgio Alexandre. **Avaliação dos parâmetros de qualidade de amostras de chás comerciais da região de Campo Mourão - Paraná**. Revista de Saúde e Biologia. vol. 13, n. 1, p. 1-11, jan./abr., 2018.

CARVALHO, Suzana; STUART, Makowiecky; PIMENTEL, Ida Chapaval; DALZOTO, Patricia do Rocio; GABARDO, Juarez; ZAWADNEAK, Maria Aparecida Cassilha. **Contaminação fúngica de camomila, erva-doce e erva-mate**. Revista do Instituto Adolfo Lutz. vol. 68. n. 1. abr., 2009.

CINTRA, Ricardo Cesar; FACIOLLI, Jeane Bueno. **Presença de fungos e micotoxinas em plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Revista Acadêmica Oswaldo Cruz. vol. 2. n. 5. out./dez., 2014.

FALKOWSKI, Gislaine Janaína Sanchez; JACOMASSI, Ezilda; TAKEMURA, Orlando Seiko. **Qualidade e autenticidade de amostras de chá de camomila (*Matricaria recutita* L. – Asteraceae)**. Rev Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, p. 64-72, 2009.

FIRMINO, Luziana de Azevedo. **Avaliação da qualidade de diferentes marcas de chá verde (*Camelliasinensis*) comercializados em Salvador – Bahia**. 2011. 112F. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

FLOR, A.S.S.O.; BARBOSA, W.L.R. **Sabedoria popular no uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro do sossego no distrito de Marudá – PA**. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.17, n.4, supl. I, p.757-768, 2015.

FREITAS, Lidiane Oliveira; RESENDE, Anselmo. **Análise de coliformes a 45°C em plantas medicinais comercializadas em feiras livres e ervanários do Distrito Federal**. Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde. vol. 16, n. 3, p.49-57, 2012. ISSN: 1415-6938

GARBIN, Luciano; TIUMAN, Tatiana Shioji; KRÜGER, Roberta Letícia. **Avaliação da Qualidade de Plantas Mediciniais Distribuídas por uma unidade de Saúde de um Município do Interior do Paraná**. Revista Ciências Exatas Naturais. vol. 15. n. 1. jan., 2013.

GOMES, Eliane Carneiro; NEGRELLE, Raquel Bonato; ELPO, Eliane Rose Serpe. **Determinação da qualidade microbiológica de chás de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (capim-limão)**. Acta Scientiarum. Health Sciences. vol. 30, n.1, p. 47-54, 2008.

HELLMANN, M. A.; VELASQUEZ, L. G. **Contaminação microbiológica em plantas medicinais e hortaliças e sua implicação no estado de saúde do consumidor: revisão**. Arq. Cienc. Saúde UNIPAR, Umuarama, v. 21, n. 2, p. 123-130, maio/ago. 2017.

HENNING, Ademir Assis. **Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja**. Embrapa. Brasília, DF. 2015.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial. **Programa de análise de produtos: Relatório sobre análise em chás**. Rio de Janeiro, 2009.

LIMA, Wellington Rodrigues de. **Presença de fungos toxigênicos e micotoxinas em plantas medicinais e chás de ervas consumidos pela sociedade brasileira**. Monografia de Especialização, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1843/BUOS-99UJVT>>. Acesso em 15 de junho 2020.

MARTINS, Monik; STOLZ, Eveline Dischklan; GADEA, Marta Grassi; MORESCO, Terimar Ruoso. **Qualidade microbiológica da marcela (*Achyrocline satureioides* (LAM.) DC.) comercializada por vendedores ambulantes**. Scientia Plena. vol.15. n. 9. set., 2019.

PEREIRA; Ariel Soliman. **Qualidade de amostras de chás comercializados na cidade de Cerro Largo – RS**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade da Fronteira Sul – UFFS, campus Cerro Largo/ RS. Nov. 2019.
<https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/3461>

ROCHA, Francisco Angelo Gurgel da; MEDEIROS, Fábio Gonçalves Macêdo de; DANTAS, Leandro Ícaro Santos; ARAÚJO, Luis Otávio de. **Contaminação microbiológica de amostras industrializadas de chá verde (*Camellia sinensis*) do comércio formal de Currais Novos, RN**. V.CONNEPI - Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação. nov., 2010.

SANTOS, Ravelly Lucena; NOBRE, Michelândia Suelleny de Caldas; GUIMARÃES, Geovani Pereira; DANTAS, Tassiana Barbosa; VIEIRA, Karlete Vania Mendes; FELISMINO, Delcio de Castro, DANTAS, Ivan Coelho. **Contaminação fúngica de plantas medicinais em chás**. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada. vol. 34. n. 2. jan., 2013.

SANTOS, Regineide Xavier; JUNIOR OLIVEIRA, Erasmo; MOTA, Emily S.; SILVA, Gabriel M. **Avaliação da qualidade de amostras comerciais de chás na cidade de Vitória da Conquista – Bahia**. Revistas Fitos. vol. 12. n. 1. abril, 2018.

SILVA, Jenifer Pappen. **Terapia complementar: A utilização de plantas medicinais na atenção básica a saúde**. Trabalho de monografia apresentado à

disciplina de Trabalho de Curso II do Curso de Enfermagem da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, 2016.

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. 535 p

SILVA, Bruna Nogueira da; SOUZA, Elton Bill Amaral de. **A suscetibilidade dos diabéticos à murcomicose rinocerebral**. Revista Saber Científico. Centro Universitário São Lucas. 20 dez. 2017.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. **Plantas Mediciniais: cura segura?** Química Nova, São Paulo, vol.28, n.3, p.519-528, 2005.

VIEIRA, Karlete Vania; ALCÂNTARA, Debora Susam; OLIVEIRA, Juliana Brito; MEDEIROS, Auriene Lopes; LOPES, Jacira Castro. **Qualidade microbiológica de ervas e chás consumidos em um hospital público de Campina Grande – PB**. Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management. vol. 13. n. 1. 2017. ISSN: 1983-4209.

VULCANO, Irma Regina Carrara; SILVEIRA, Josiane 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.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W.S.M.; FÁVERO, M.L.D.; CORREA JUNIOR, C.; STREMEL, D.P. **Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná**. Revista Brasileira de Farmacognosia. vol. 14. n. 1. P.29-39. fev., 2004.