



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

THAMIRES LACERDA DANTAS

**CONTROLE MICROBIOLÓGICO DE PLANTAS MEDICINAIS ADQUIRIDAS NO
COMÉRCIO FORMAL E INFORMAL DA CIDADE DE CAMPINA GRANDE,
PARAÍBA**

Trabalho de Conclusão de Curso

**Campina Grande, PB
2017**

THAMIRES LACERDA DANTAS

**CONTROLE MICROBIOLÓGICO DE PLANTAS MEDICINAIS ADQUIRIDAS NO
COMÉRCIO FORMAL E INFORMAL DA CIDADE DE CAMPINA GRANDE,
PARAÍBA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba.

Área de concentração: Controle de Qualidade de Medicamentos

Orientador: Me. Geovani Pereira Guimarães

Coorientadora: Me. Zilka Nanes Lima

Campina Grande, PB

2017

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

D192c Dantas, Thamires Lacerda.

Controle microbiológico de plantas medicinais adquiridas no comércio formal e informal da cidade de Campina Grande, Paraíba [manuscrito] / Thamires Lacerda Dantas. - 2017.

49 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação: Prof. Me. Geovani Pereira Guimarães, Departamento de Farmácia".

"Co-Orientação: Profa. Ma. Zilka Nanes Lima, Departamento de Farmácia".

1. Plantas medicinais. 2. Chás. 3. Controle microbiológico. 4. Micro-organismos. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

THAMIRES LACERDA DANTAS

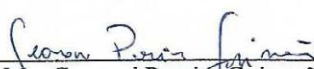
**CONTROLE MICROBIOLÓGICO DE PLANTAS MEDICINAIS ADQUIRIDAS NO
COMÉRCIO FORMAL E INFORMAL DA CIDADE DE CAMPINA GRANDE,
PARAÍBA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia da Universidade Estadual
da Paraíba.

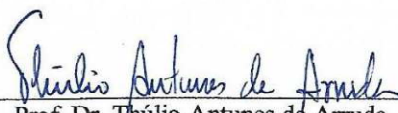
Área de concentração: Controle de Qualidade de
Medicamentos

Aprovada em: 16 / 03 / 2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Me. Geovani Pereira Guimarães (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Thúlio Antunes de Arruda
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Karlete Vania Mendes Vieira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Meus pais, minha irmã e
meu noivo ,
à vocês dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que esteve comigo em todos os momentos.

Ao meu orientador e professor, Geovani, que fez jus a esse título, apontando sempre as melhores direções. Pude conhecer de perto a excelente pessoa e profissional exemplar que és!

A todos os técnicos e funcionários do NUPEA, que foram de uma generosidade única.

A todos os professores que contribuíram para que eu conseguisse chegar até aqui, em especial ao professor Thúlio Antunes e professoras Maricelma Ribeiro, Sayonara Fook e Clésia Pachú.

À professora Zilka, que me socorreu quando precisei.

Aos meus pais pelo suporte, preocupação e cuidado dispensados a mim desde o meu nascimento até essa etapa tão importante. Sem vocês eu nunca conseguiria.

À minha irmã, companheira e melhor amiga, agradeço por simplesmente existir.

Ao meu noivo e muito em breve esposo, que compartilhou comigo os momentos prévios a minha entrada na universidade e hoje presencia o final dessa etapa, agradeço por me escutar, me acalmar, enxugar minhas lágrimas, suportar minhas preocupações, me falar SEMPRE que tudo daria certo e quando tudo deu certo, obrigada por ter se alegrado comigo.

À minhas colegas de curso, Ana, Bia e, principalmente Thayse, que nessa reta final foi um verdadeiro ombro amigo.

À Crislaine, por toda a ajuda, pelas caronas, por tudo. Espero ter retribuído pelo menos metade do que você fez por mim.

“A persistência é o caminho do êxito”
(Charles Chaplin)

RESUMO

O uso de plantas medicinais acompanha a evolução da humanidade, que buscou na natureza as espécies vegetais mais apropriadas para a cura de seus males. As plantas medicinais podem ser adquiridas em mercados públicos, lojas de ervas, colhidas no campo ou cultivadas em jardins ou hortas, sendo utilizadas de diversas maneiras, principalmente na forma de chá. O modo como as plantas são cultivadas e comercializadas pode comprometer sua qualidade, contaminando-as com impurezas e/ou micro-organismos que podem prejudicar a saúde do consumidor. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de plantas medicinais adquiridas na feira-livre central e no comércio formal da cidade de Campina Grande, Paraíba, quantificando a carga microbiana das amostras e verificando a presença ou ausência de micro-organismos patogênicos. As espécies analisadas foram *Peumus boldus* Molina, *Matricaria chamomilla* L. e *Pimpinella anisum* L., selecionadas devido à grande procura por parte da população e pela disponibilidade tanto na feira-livre como no comércio formal. As análises microbiológicas foram realizadas no Núcleo de Pesquisa em Alimentos da Universidade Estadual da Paraíba, de acordo com metodologias preconizadas e adaptadas da Farmacopeia Brasileira, 5ª edição. Das amostras analisadas, 100% apresentaram-se contaminadas por bactérias e/ou bolores e leveduras; em 55% observou-se presença significativa de coliformes totais e em nenhuma delas constatou-se a presença de coliformes termotolerantes e/ou micro-organismos patogênicos. Após realizada a infusão de uma das amostras, observou-se uma redução da carga microbiana quando comparada a análise da mesma amostra *in natura*, constatando-se assim a eficácia da temperatura na melhora da qualidade microbiológica das plantas medicinais que passarão por processos extrativos a quente.

Palavras-Chave: Chás. Plantas medicinais. Micro-organismos.

ABSTRACT

The use of medicinal plants accompanies the evolution of humanity, which sought in nature the most appropriate vegetable species for the cure of its evils. Medicinal plants can be purchased in public markets, herbal stores, harvested in the field or grown in gardens or vegetable gardens, being used in various ways, especially in the form of tea. The way in which plants are grown and marketed can compromise their quality by contaminating them with impurities and / or microorganisms that may harm the health of the consumer. Therefore, the objective of this work was to evaluate the microbiological quality of medicinal plants purchased in open market and in the formal trade, quantifying the microbial load of the samples and verifying the presence or absence of pathogenic microorganisms. The species analyzed were *Peumus boldus* Molina, *Matricaria chamomilla* L. and *Pimpinella anisum* L.. As a criterion for choosing the samples, each of them had to be available both at the central fair and in the formal trade of the city of Campina Grande, Paraíba, besides being of broad demand. The microbiological analyzes were carried out at the Food Research Center of the State University of Paraíba, according to methodology recommended and adapted from the Brazilian Pharmacopoeia, 5th edition. Of the analyzed samples, 100% were contaminated by bacteria and / or molds and yeasts; 55% showed a significant presence of total coliforms and in none of them was the presence of thermotolerant coliforms and / or pathogenic microorganisms. After the infusion of one of the samples, a reduction of the microbial load was observed when compared to the same *in natura* sample, this verifying the effectiveness of the temperature in the improvement of the microbiological quality of the medicinal plants that will undergo hot extractive processes.

Keywords: Teas. Medicinal plants. Microorganisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Procedimento para contagem de micro-organismos viáveis totais.....	21
Figura 2-	Procedimento para pesquisa de coliformes totais e termotolerantes.....	25
Figura 3-	Comércio de plantas medicinais em feira-livre da cidade de Campina Grande, Paraíba.....	27
Figura 4-	Crescimento fúngico em amostras comercializadas em feira-livre.....	29
Figura 5-	Crescimento fúngico em amostras provenientes do comércio formal.....	30
Figura 6-	Crescimento bacteriano não característico de patógenos em <i>Matricharia chamomilla</i> L. adquirida em feira-livre.....	31
Figura 7-	Coloração de Gram de bactérias encontradas em amostras de chás adquiridos em feira-livre e no comércio formal da cidade de Campina Grande, PB.....	32
Figura 8-	Resultados da pesquisa de coliformes totais a 35°C.....	34
Figura 9-	Eficácia da temperatura na redução da carga microbiana em amostra de <i>P. anisum</i> L..	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EMB	Eozina Azul de Metileno
EC	<i>Escherichia coli</i>
MH	Müeller-Hinton
MS	Manitol Salgado
SS	<i>Salmonella-Shigella</i>
VB	Verde Bile Brilhante
UFC	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Uso de plantas medicinais	13
2.2 Comércio de plantas medicinais	15
2.3 Espécies vegetais estudadas	16
2.3.1 <i>Peumus boldus</i> Molina	16
2.3.2 <i>Matricaria chamomilla</i> L.	17
2.3.3 <i>Pimpinella anisum</i> L.	17
2.4 Qualidade microbiológica de plantas medicinais	18
3 METODOLOGIA.....	20
3.1 Obtenção das amostras	20
3.2 Preparo das amostras	20
3.3 Contagem de micro-organismos viáveis totais	21
3.4 Pesquisa de micro-organismos patógenos	22
3.4.1 Preparo e enriquecimento das amostras	22
3.4.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
3.4.2 <i>Salmonella</i> spp.....	22
3.4.4 <i>Escherichia coli</i>	23
3.4.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
3.4.6 Coloração de Gram	23
3.5 Pesquisa de coliformes totais e fecais	24
3.6 Avaliação da carga microbianana da infusão	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

A utilização dos recursos da natureza é uma prática antiga, que data dos primórdios da civilização humana, sendo os produtos minerais, de plantas e animais fundamentais para a área da saúde. Historicamente, as plantas medicinais são importantes como fitoterápicos e na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, sendo o reino vegetal o maior contribuinte para a área de medicamentos (AMARAL; RODRIGUES, 2012).

O Brasil é um país que possui de 15 a 20% do total mundial da biodiversidade. Parte dessa biodiversidade é utilizada como substrato para a fabricação de medicamentos e em práticas populares e tradicionais, como remédios caseiros e comunitários, processo conhecido como medicina tradicional (BRASIL, 2006). O uso de plantas medicinais no Brasil emerge como uma alternativa terapêutica, consideravelmente influenciada pela cultura indígena, pelas tradições africanas e pela cultura europeia trazida pelos colonizadores (LACERDA et al., 2013).

O uso desses recursos medicinais vem aumentando entre a população, restringindo-se às zonas rurais ou regiões desprovidas de assistência médica e farmacêutica. Tudo indica que elas são utilizadas no meio urbano como forma alternativa ou complementar aos medicamentos alopáticos. Também é importante ressaltar que o alto custo dos medicamentos industrializados dificulta a aquisição dos mesmos pela população, que busca nas ervas medicinais uma alternativa mais acessível para sua indisposição orgânica (NUNES, 2004).

De acordo com a OMS (2003), planta medicinal é uma espécie vegetal cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos. Chama-se planta fresca aquela coletada no momento de uso e planta seca a que foi precedida de secagem, equivalendo à droga vegetal (CAVALCANTE, 2011). A forma como as plantas medicinais são utilizadas pela população é bastante diversificada, incluindo entre elas as garrafadas, chás, xaropes caseiros, gargarejo, entre outras. Os chás e infusões são as formas mais comumente usadas (SILVA et al., 2012; LACERDA et al., 2013; SILVA; HAHN, 2011; BADKE et al., 2011).

As plantas possuem uma grande variedade de fungos e bactérias em sua microbiota natural, sendo, portanto, esperado que parte destes micro-organismos sejam encontrados no produto final. Entretanto, durante as etapas de pré e pós-colheita destes vegetais, uma maior carga microbiana pode ser adicionada (COSSATIS, 2015).

A ocorrência de doenças transmitidas por alimentos e ou ervas medicinais e

condimentares contaminadas tem sido alvo de discussões nos últimos anos, devido à preocupação com estratégias que permitam seu controle e, conseqüentemente, garantam a colocação de produtos seguros no mercado consumidor (CARVALHO et al., 2010). Logo, o controle microbiológico das plantas medicinais mostra-se indispensável para garantir a qualidade do produto e minimizar os riscos para o consumidor.

O presente trabalho foi realizado no laboratório do Núcleo de Pesquisas em Alimentos – NUPEA e no laboratório de controle microbiológico da Farmácia Escola, ambos pertencentes a Universidade Estadual da Paraíba. Como objetivo, procurou-se avaliar e comparar a qualidade microbiológica de plantas medicinais utilizadas no preparo de chás, comercializadas em feira-livre e no comércio formal da cidade de Campina Grande, Paraíba, podendo assim, a partir dos resultados obtidos, analisar o nível de segurança para a população que adquire e consome esses produtos.

2 REFERENCIAL TERÓRICO

2.1 Uso de plantas medicinais

O uso de plantas medicinais vem se destacando como um recurso importante há milhares de anos, sendo difundido em todo o mundo, para o tratamento e prevenção de doenças humanas, além de servir como fonte de inovação na descoberta de novas drogas (MARMITT et al., 2015). Estima-se que pelo menos 25% de todos os medicamentos modernos são derivados direta ou indiretamente de plantas medicinais, principalmente por meio da aplicação de tecnologias modernas ao conhecimento tradicional (AMARAL; RODRIGUES, 2012).

O conhecimento do homem acerca das virtudes das plantas coincide com sua própria história, tendo surgido à medida que as necessidades básicas precisavam ser supridas, através das casualidades, tentativas e observações. A natureza sempre foi um recurso fundamental para a sobrevivência do homem primitivo, que fazia uso das plantas medicinais para curar-se (ALMEIDA, 2011).

O consumo de plantas medicinais no Brasil antecede a chegada dos portugueses no país no ano de 1500. Recursos da medicina indígena foram progressivamente incluídos na farmacopeia do país dos colonizadores. Ao longo dos séculos XVI, XVII e XVIII, produtos derivados da biodiversidade vegetal brasileira foram amplamente empregados na Europa, alimentando uma lucrativa rede comercial (ROCHA et al., 2015).

Mesmo diante do avanço da medicina em diversas partes do mundo, no Brasil as plantas medicinais costumam ser uma das alternativas para parte da população, principalmente a de baixa renda, devido a diversos fatores, dentre os quais, o custo alto dos medicamentos industrializados e o acesso restrito a um sistema de saúde de qualidade (CAVAGLIER, 2014). Messias et al. (2015) em seu estudo sobre o uso popular de plantas medicinais em área urbana de Ouro Preto, MG, constataram que mais de 90% das 6.713 pessoas entrevistadas faziam uso de plantas para se tratarem, sendo as principais moléstias: diarreia, insônia, doenças do trato respiratório, hepáticas e renais.

Visando garantir a segurança, eficácia, qualidade, uso racional e acesso as práticas de Medicina Tradicional e Complementar, a partir da Portaria n° 971 de 03 de maio de 2006, o Ministério da Saúde aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas (PNPIC), o que fortalece a introdução e uso de plantas medicinais e fitoterápicos na atenção básica no SUS. Para

implementar a PNPIC, o Decreto n° 5.813, de 22 de junho de 2006 aprovou a Política Nacional de Plantas medicinais e Fitoterápicos, que incentiva a pesquisa, desenvolvimento de tecnologias e inovações em plantas medicinais e fitoterápicos. Estas medidas apontam para maior valorização e reconhecimento deste recurso terapêutico como alternativa para a população brasileira (CARVALHO et al., 2007).

Para melhor regulamentar o uso de plantas medicinais, o Ministério da Saúde elaborou, em fevereiro de 2009, uma relação de plantas medicinais de interesse ao SUS, a RENISUS, com espécies potenciais para o desenvolvimento de novos produtos. Dentre as espécies listadas, constam plantas usadas pela sabedoria popular e confirmadas cientificamente (MARMITT et al., 2015).

Segundo a RDC n°. 10/2010, droga vegetal é a planta medicinal ou suas partes, que contenham as substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta ou colheita, estabilização, secagem, podendo ser íntegra, rasurada ou triturada. Um total de 66 plantas medicinais foi reconhecido pela ANVISA como de utilização medicinal tradicional no Brasil na forma de drogas vegetais, podendo ser notificadas para comercialização (CARVALHO et al., 2012).

A maneira mais popular de utilização das plantas medicinais é na forma de chá, através de infusão ou decocção. Na infusão, a água fervente é vertida sobre a planta medicinal, já na decocção a planta é fervida juntamente com a água (PEGLOW; VELLOSO, 2002). Cruz et al. (2011), estudando o perfil de utilização de plantas medicinais em quintais da comunidade de Salobra Grande, distrito de Porto Estrela - MT, observaram que 93% dos entrevistados relataram ser o chá a forma de escolha no preparo da planta como medicamento.

De acordo com a RDC n°. 277/2005 chá é o produto constituído de uma ou mais partes de espécie(s) vegetal (is) inteira(s), fragmentada(s) ou moída(s), com ou sem fermentação, tostada(s) ou não. O produto pode ser adicionado de aroma e ou especiaria para conferir aroma e ou sabor. A Resolução RDC n°. 267/2005 da ANVISA regulamentou lista das espécies vegetais e das partes das espécies vegetais permitidas para o preparo de chás.

No Brasil, a maioria dos chás é comercializada como alimento, dada à maior facilidade de registro, e são submetidos, para fins de inspeção, à Portaria n° 326 do Ministério da Saúde. Atualmente, mais de 3000 variedades estão disponíveis, algumas utilizadas apenas para fins medicinais, outras apreciadas como bebida (FIRMINO, 2011).

O estudo das plantas medicinais, em todos os seus aspectos, se faz cada vez mais importante, visto que na biodiversidade da flora brasileira pode se encontrar o futuro do avanço na saúde. O saber popular e o uso tradicional das plantas como métodos medicinais alternativos devem ser olhados com mais atenção. O diálogo entre o discurso popular e científico deve existir e tem muito a contribuir. Se bem utilizado, pode garantir a conservação e reprodução de um saber popular que pode gerar inúmeros benefícios para a população (BITTENCOURT; CAPONI; FALKENBERG, 2002).

2.2 Comércio de plantas medicinais

O mercado e a comercialização de plantas medicinais apresentam peculiaridades que exigem ser conhecidas detalhadamente para que se garanta o sucesso de suas execuções. O comércio de plantas medicinais geralmente é realizado em: ervanários, farmácias de manipulação e laboratórios fitoterápicos, bem como atacadistas de plantas medicinais, além de programas de fitoterapia de prefeituras municipais e pastorais da saúde e da criança, indústrias de extração de óleo, indústrias de cosméticos e perfumaria, indústrias de alimentos e bebidas, indústrias de produtos de limpeza, lojas de produtos naturais e artesanais, restaurantes, feiras e outros (BRASIL, 2006).

O comércio de plantas medicinais é regulamentado por meio da lei nº 5.991/1973, que prevê sua comercialização em ervanarias e farmácias. Essa mesma lei estabelece o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, em todo o território nacional (CARVALHO et al., 2012). Com a criação de políticas públicas que respaldassem desde o cultivo até o uso das plantas medicinais, como visto no Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, houve um incentivo para o cultivo por agricultores familiares, permitindo a sua inserção na cadeia produtiva, de forma eficiente e adequada, e o acesso aos mercados tradicionais e, ou, potenciais (SOUZA; PEREIRA; FONSECA, 2012).

A comercialização de plantas medicinais no Brasil rearranja-se por meio de quatro canais de distribuição, considerando o caminho percorrido desde a produção até o consumidor/cliente. Esses canais acontecem entre produtor/extrator e atacadistas, indústria e varejistas. Os varejistas correspondem à feira-livre e/ou redes de supermercados (LOURENZANI et al., 2004).

Atualmente, o comércio de plantas medicinais em mercados abertos muitas vezes é

impulsionado apenas por desemprego e ausência de quaisquer outras alternativas de renda. Desta forma, nem sempre aqueles que comercializam as plantas medicinais detêm, de fato, conhecimento de suas aplicações, interações entre espécies distintas e modos corretos de uso (ARAUJO et al., 2009). Apesar disso, muitos comerciantes aparentam ter algum conhecimento sobre a finalidade, modo de uso e indicação de cada material com que trabalham, tendo adquirido esse conhecimento através, principalmente, do convívio com familiares que já trabalhavam no ramo (MATTOS et al., 2015; ARAUJO et al., 2015).

Os mercados tradicionais são importantes por reunir, concentrar, manter e difundir o saber empírico sobre a diversidade de recursos tanto da fauna como da flora, sendo fontes imprescindíveis para a resiliência e manutenção do conhecimento acerca das espécies medicinais (PINTO et al., 2013).

2.3 Espécies vegetais estudadas

2.3.1 Peumus boldus Molina

Peumus boldus Molina, conhecido popularmente como boldo ou boldo-do-chile, pertence a família Monimiaceae e é uma espécie arbórea originária da região central e sul do Chile onde ocorre abundantemente (SOUZA, 2014; MELO et al., 2014). Apresenta folhas acidentadas, com nervuras salientes, aromáticas e de gosto picante (BARBOSA et al., 2001).

Suas folhas são usadas na medicina popular para tratamento de problemas digestivos e hepáticos. Seus principais constituintes químicos são alcaloides do tipo aporfínicos, sendo a boldina seu maior e mais característico representante, cujas propriedades antioxidantes são extensivamente relatadas na literatura, servindo desta forma como marcador químico para a espécie (RUIZ et al., 2008; SCHWANZ, 2006).

Como fitoterápico, o *Peumus boldus* Molina é indicado para o tratamento de distúrbios digestivos leves, atuando na redução de espasmos gastrintestinais. Funciona como estimulante digestivo, apresentando efeito colagogo no estímulo à secreção da bile pela vesícula biliar para o duodeno, e colérico, no estímulo à produção de bile pelo fígado, auxiliando a digerir os alimentos gordurosos. Não deve ser utilizado por pacientes com doenças severas no fígado; grávidas e lactantes também têm restrição quanto ao seu uso (ANVISA).

2.3.2 *Matricaria chamomilla* L.

Matricaria chamomilla L. pertence à família *Asteraceae* e é uma das mais importantes ervas medicinais nativas do sul e leste europeu (HOSSEINPOUR et al., 2013; SINGH et al., 2011). Conhecida popularmente por camomila, camomila-alemã, camomila comum, camomila vulgar, marcela-galega, matricária, é uma erva de caule ereto, que cresce até 50 cm de altura; as folhas, de cor verde, são alternas e estreitas, além de muito aromáticas. Os ramos terminam com flores compostas de pétalas brancas que circundam um botão de cor amarela (RESTREPO et al., 2013; LOPES et al., 2010).

A camomila é bastante utilizada na forma de chá. Para uso interno, indica-se a quantidade de 3 gramas de inflorescência seca em 150 mL de água, preparado por infusão. O infuso de *Matricaria chamomilla* L. não é indicado para crianças menores de 12 anos e pessoas que apresentem hipersensibilidade a camomila ou a plantas da família *Asteraceae* (BRASIL, 2011).

As propriedades terapêuticas da camomila são conhecidas desde épocas remotas; os antigos egípcios, por exemplo, a utilizavam no combate a febre alta e insolação (OLIVEIRA, 2012). Dentre as atividades farmacológicas comprovadas, destacam-se a anti-inflamatória, imunomoduladora, anti-hiperglicemiante, acaricida, antimicrobiana, além do uso no tratamento de inflamações da mucosa oral, do estresse e depressão, entre outras. Os principais constituintes químicos da *Matricaria chamomilla* L. são terpenoides (a-bisabolol), flavonoides (apigenina, luteonina, quercetina) e cumarinas (GUPTA et al., 2010; MURTI et al., 2012).

2.3.3 *Pimpinella anisum* L.

Pimpinella anisum L. é uma planta originária da Ásia e bastante cultivada no Brasil. Popularmente conhecida como anis-verde, anis, aniz, erva-doce e pimpinela-branca, pertence à família *Umbelliferae* e caracteriza-se por ser uma espécie herbácea anual, cuja altura varia de 30 a 50 centímetros (SHOJAI; FARD, 2012; SANTOS, 2012). Na medicina tradicional é usada para diversos fins como intoxicação, cólica de bebê, pressão, dores, taquicardia, calmante, mal-estar, fraqueza, vômito, laxante, prisão de ventre, dor de cabeça, sendo preparada principalmente na forma de infusão (REZENDE; COCCO, 2002; SANTOS et al., 2012).

Pimpinella anisum L. é uma espécie vegetal amplamente utilizada pelas indústrias farmacêutica, alimentícia, de cosmético e perfumaria. Para fins medicinais, são comumente utilizados os frutos, raízes e folhas secas, ricos em óleos voláteis, ácidos graxos, cumarinas, flavonoides, glicosídeos, proteínas e carboidratos (TAKAHASHI et al., 2009; ULLAH, 2013; BEKARA et al., 2015).

Os óleos essenciais de *Pimpinella anisum* L. possuem alta concentração de (E)-anetol, um fenilpropanoide com ampla ação frente a bactérias como *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans* e *Candida krusei*, além de ter sua eficácia comprovada no controle de *Aedes aegypti* (L.), *Culex pipiens* (L.) e *Ochlerotatus caspius* (L.), vetores de importantes doenças (LIMA et al., 2008; FREIRE et al., 2011).

O uso de *Pimpinella anisum* L. no preparo de chás não tem contraindicações, porém devido ao seu discreto efeito sedativo quando utilizada nessa forma, ao ser administrada concomitantemente com drogas hipnóticas, poderá prolongar o efeito das mesmas (SANTOS, 2012; NICOLETTI et al., 2007).

2.4 Qualidade microbiológica de plantas medicinais

A maioria das plantas medicinais comercializadas, sejam elas *in natura* ou embaladas, apresenta-se de forma inadequada, seja no aspecto terapêutico, comprometendo assim a garantia de suas propriedades farmacológicas, ou no aspecto da qualidade, estando contaminada por impurezas (terra, areia, dejetos animais, outras espécies vegetais, coliformes fecais, etc.) (BRASIL, 2006).

As plantas possuem uma grande variedade de fungos e bactérias em sua microbiota natural, sendo, portanto, esperado que parte destes micro-organismos sejam encontrados no produto final. Entretanto, durante as etapas de pré e pós-colheita destes vegetais, uma maior carga microbiana pode ser adicionada (COSSATIS, 2015). Para que a carga microbiana seja reduzida, alguns cuidados são necessários, como higiene adequada das mãos dos manipuladores das plantas medicinais; o material coletado deve ser colocado sobre superfície limpa; o recipiente de coleta deve ser limpo; deve-se procurar eliminar impurezas que possam acompanhar o órgão ou a planta recém coletada; a secagem da planta deve ser realizada o mais rápido possível sem, entretanto,

deixar de ser eficiente (BOCHNER et al., 2012). Segundo Nogueira (2007) a secagem da planta medicinal reduz o aparecimento de contaminação por fungos e outros micro-organismos.

A procedência da água de irrigação das culturas de plantas medicinais é um fator muito importante na garantia da qualidade microbiológica do produto que será utilizado pela população. O indicado é que a água utilizada passe por uma análise, onde será certificado que a mesma se encontra dentro dos padrões de qualidade estabelecidos em relação aos contaminantes (BRASIL, 2006). Vieira et al. (2015), assim como Silva et al. (2016), em seus estudos sobre a qualidade das águas de irrigação utilizadas em horticulturas constataram que cerca de 90% das amostras analisadas apresentaram contaminação por coliformes.

Segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010), os produtos de origem vegetal são destinados a cinco formas de uso, de acordo com sua via de administração: aplicação em preparações para uso oral, drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a quente, drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio, extrato seco e extrato fluido. Para cada finalidade da matéria-prima vegetal, há um limite microbiano aceitável. Para alguns micro-organismos, como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, os parâmetros de aceitação baseiam-se na ausência dos mesmos.

As doenças causadas por alimentos contaminados, dentre eles as plantas medicinais utilizadas no preparo de chás, constituem um dos problemas de saúde mais comuns. A maioria das doenças alimentares é causada por agentes biológicos, como os micro-organismos, que pela sua proliferação ou produção de toxinas, podem ocasionar quadros clínicos de doença (BAPTISTA; ANTUNES, 2005).

O controle microbiológico das plantas medicinais é indispensável para garantir a qualidade do produto e minimizar os riscos para o consumidor (COSSATIS, 2015). Segundo pesquisas, a qualidade das plantas medicinais comercializadas no Brasil ainda não é satisfatória, o que aponta para uma necessidade de conscientização dos agricultores no sentido de adequarem às Boas Práticas do Cultivo, assegurando, assim, a qualidade e segurança das plantas medicinais (COSSATIS, 2015; BARBOSA et al., 2010; VERDI; YOUNES; BERTOL, 2013; SALVADOR et al., 2011).

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção das amostras

As espécies vegetais escolhidas para esse estudo foram obtidas em supermercados e na feira-livre central da cidade de Campina Grande, Paraíba, Brasil. Os critérios de seleção das amostras foram: serem espécies vegetais de ampla procura e comercializadas tanto no mercado informal como no formal.

As plantas selecionadas foram *Peumus boldus* Molina, *Matricaria chamomilla* L. e *Pimpinella anisum* L. Foram obtidas 3 amostras de cada espécie, duas delas comercializadas formalmente e de marcas distintas e uma obtida na feira-livre. As marcas selecionadas foram designadas genericamente pelas letras B e C, assim como a amostra adquirida na feira-livre foi identificada pela letra A. No total, 9 amostras foram utilizadas no estudo.

Para as amostras obtidas em supermercado, foi obedecido o disposto na RDC nº 12/2001, que prevê metodologias para amostragem, colheita, acondicionamento, transporte e análise microbiológica de amostras de produtos alimentícios. As amostras foram coletadas em suas embalagens originais não violadas, observando a quantidade mínima de 10 – 20 g por unidade amostral. As amostras obtidas no comércio informal foram coletadas da maneira como as mesmas são normalmente comercializadas pelo vendedor, embrulhadas em papel ou saco plástico.

As amostras foram analisadas no Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológica da Farmácia Escola da Universidade Estadual da Paraíba e no Núcleo de Pesquisa em Alimentos –NUPEA da Universidade Estadual da Paraíba.

3.2 Preparo das amostras

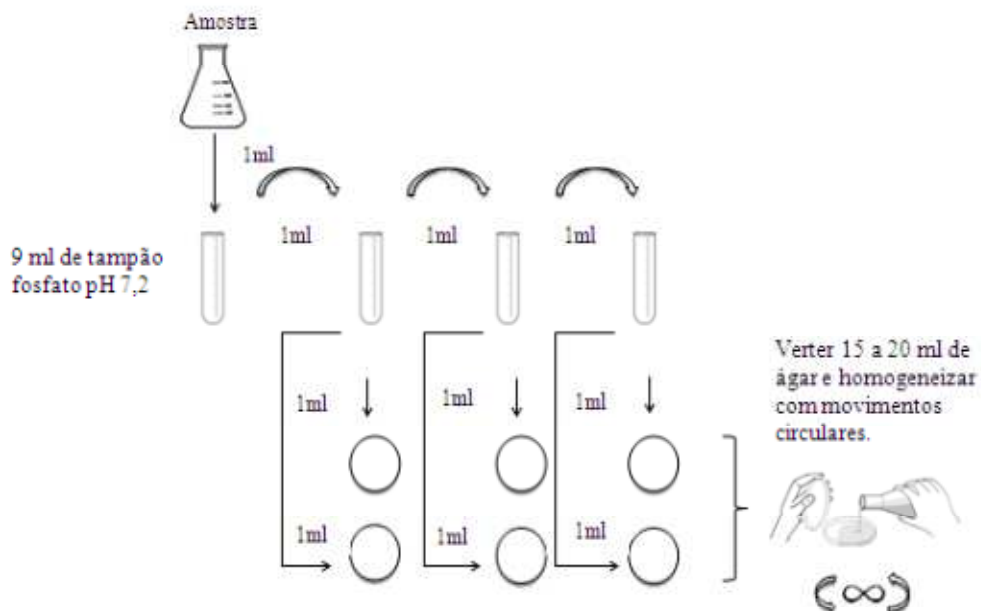
De cada amostra obtida foram pesados e triturados, individualmente, 10 gramas, que foram transferidos para erlenmeyer contendo 90 mL de tampão fosfato pH 7,2 estéril, seguido de agitação manual, o que originou a primeira diluição (10^{-1} ou 1:10). Foram obtidas três diluições decimais sucessivas, a 1:100, 1:1000 e 1:10000, 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , respectivamente, partindo-se de 1mL da diluição anterior em um tubo de ensaio contendo 9mL de tampão fosfato 7,2 (SANTOS et al., 2013).

3.3 Contagem de micro-organismos viáveis totais

A contagem de micro-organismos foi realizada segundo o preconizado na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010) para ensaios microbiológicos de produtos não estéreis.

Foi utilizada a técnica de semeadura em profundidade (*pour plate*), transferindo uma alíquota de 1mL de cada diluição realizada para réplicas (n=2) de placas de Petri estéreis. Em seguida, verteu-se cerca de 15 a 20 mL de meio de cultura estéril (Ágar Caseína Soja para pesquisa de bactérias e Ágar Sabouraud – Dextrose para fungos e leveduras) ainda liquefeito (45 – 50°C) em cada uma das placas contendo as alíquotas das respectivas diluições e foram homogeneizadas com movimentos circulares em S ou 8 sobre a bancada de trabalho. As placas permaneceram em repouso à temperatura ambiente até solidificação, sendo em seguida incubadas em estufa, na posição invertida, em diferentes condições de tempo e temperatura (2 a 5 dias de incubação a 30 – 35°C para bactérias, e 5 a 7 dias a 20-25° C para fungos). A Figura 1 apresenta esquema do procedimento.

Figura 1: Procedimento para contagem de micro-organismos viáveis totais



Fonte: Elaborada pela autora

Para determinação da carga microbiana das amostras, somente as placas que apresentaram número de colônias inferior a 250 (bactérias) e 50 (bolores e leveduras) por placa foram consideradas para o registro dos resultados. Tomou-se a média aritmética das placas de cada meio e calculou-se o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama ou mL do produto.

3.4 Pesquisa de micro-organismos patógenos

A presença de células viáveis de *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi avaliada através da utilização de meios de enriquecimento e de diferenciação para os micro-organismos, sendo realizada conforme metodologias adaptadas da Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010).

3.4.1 Preparo e enriquecimento das amostras

Foi pesada a quantidade de 25 g de amostra e transferida para erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada estéril, correspondendo à diluição 10^{-1} , sendo homogeneizada e incubada em estufa a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas.

3.4.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Partindo-se da amostra enriquecida, uma alíquota foi transferida com uma alça calibrada para placa contendo Ágar Müeller-Hinton (MH) sendo incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 – 72 horas. O crescimento de colônias produtoras de pigmento esverdeado indica presença provável de *Pseudomonas aeruginosa*. A amostra cumprirá o teste se não for observado crescimento de tais colônias.

3.4.3 *Salmonella* spp.

Foi realizada subcultura, partindo-se da amostra enriquecida, em placa contendo Ágar *Salmonella-Shigella* (SS), sendo incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 48 horas.

O crescimento de colônias bem desenvolvidas, incolores e geralmente com centro negro indica presença provável de *Salmonella* spp. A amostra cumpre o teste se não for observado crescimento de tais colônias.

3.4.4 *Escherichia coli*

A identificação de *Escherichia coli* se deu através de subcultura da amostra enriquecida em placa contendo Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), que foi incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 72 horas.

O crescimento de colônias verde metálicas, geralmente não mucosas, com micromorfologia característica de bacilo Gram-negativo, indica presença provável de *E.coli*. O produto cumpre o teste se não for observado crescimento de tais colônias.

3.4.5 *Staphylococcus aureus*

Após o enriquecimento, 0,1 mL da amostra enriquecida foi transferido para placa contendo Ágar Manitol Salgado (MS), semeada com auxílio da alça de Drigalski. A placa foi incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 – 72 horas.

O crescimento de colônias amarelas ou brancas rodeadas por uma zona amarela indica presença provável de *S. aureus*. O produto cumpre o teste se não for observado crescimento de tais colônias.

3.4.6 Coloração de Gram

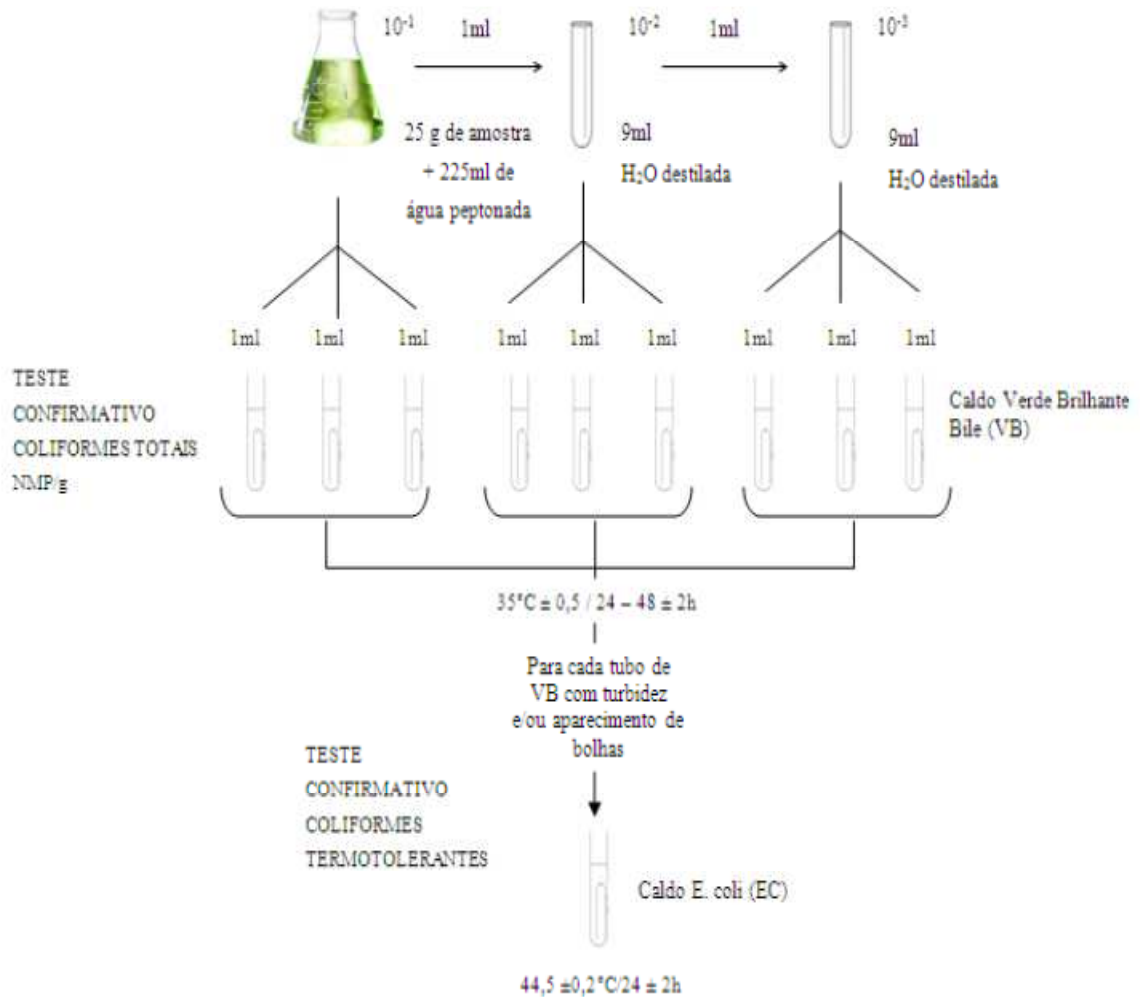
Foi realizada a coloração de Gram para as bactérias que cresceram nos meios semeados. Foram preparados e corados esfregaços das colônias a serem analisadas, utilizando-se cristal-violeta, lugol, álcool-acetona e fucsina. As lâminas foram observadas em objetiva de imersão (100X).

3.5 Pesquisa de coliformes totais e termotolerantes

De acordo com a RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, produtos a serem consumidos após adição de líquido, com emprego de calor (min. 75°C durante 20 segundos), como exemplo as plantas medicinais para o preparo de chás, devem ter uma tolerância de 10³ coliformes termotolerantes/g.

A pesquisa de coliformes totais (35°C) e termotolerantes (45°C) foi dividida em duas etapas (Figura 2), ambas realizadas em tubos de ensaio, contendo tubos de Durham. Inicialmente, a amostra foi inoculada em caldo Verde Bile Brilhante (VB) e os tubos foram incubados a 35°C por 24/48 horas, considerando como positivas as amostras que apresentaram formação de bolhas no tubo de Durham e/ou turvação do meio. As amostras positivas foram inoculadas em caldo *Escherichia coli* (EC) e incubadas em estufa a 45°C por 24/48 horas. A formação de gás e/ou turvação indica presença de coliformes a 45°C. As análises foram feitas em três séries, cada uma contendo três tubos. A contagem e interpretação dos resultados deu-se mediante a tabela de Números Mais Prováveis (SILVA, 2010).

Figura 2: Procedimento para pesquisa de coliformes totais e termotolerantes



Fonte: Elaborada pela autora

3.6 Avaliação da carga microbiana da infusão

Após determinação da carga microbiana das amostras, foi selecionada aleatoriamente uma delas para avaliar a eficácia da utilização de calor no processo de obtenção de uma infusão quanto à redução da carga microbiana. O infuso selecionado foi preparado de acordo com instrução presente na embalagem do chá industrializado, vertendo-se 130 mL de água fervente

(previamente esterilizada) sobre um sachê de chá contido em um recipiente estéril, deixando em repouso por um período de 3 minutos.

A carga microbiana da infusão foi determinada pela metodologia de contagem de micro-organismos viáveis totais, descrita na sessão 3.3.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na feira-livre central de Campina Grande, pôde-se observar que em algumas barracas as plantas medicinais são armazenadas ao ar livre, expostas a diversos contaminantes presentes no meio ambiente (Figura 3). De acordo com Coutinho et al. (2008), esse tipo de comércio apresenta alguns graves problemas como a falta de higiene, má estrutura das barracas, venda de produtos não permitidos, falta de segurança e desorganização. Tais problemas contrariam a legislação sanitária, vindo a comprometer a qualidade dos produtos e colocar em risco a saúde do consumidor.

Figura 3: Comércio de plantas medicinais em feira-livre da cidade de Campina Grande, Paraíba



Fonte: Dados da pesquisa

As amostras adquiridas no mercado formal atenderam as exigências da RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002, que aprova os regulamentos técnicos de rotulagem de alimentos embalados e da Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998, que aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de "Chás - Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções".

Foram analisadas 9 amostras de plantas medicinais, sendo escolhidas três espécies (*Peumus boldus* Molina, *Pimpinella anisum* L. e *Matricaria chamomilla* L.) e de cada espécie, uma amostra foi obtida em feira-livre e duas no mercado formal. Dentre elas, 100% apresentaram crescimento bacteriano e fúngico, 55,5% apresentou presença significativa de coliformes totais e

em nenhuma delas constatou-se a presença de coliformes termotolerantes e/ou micro-organismos patogênicos.

Os níveis encontrados de contaminação por micro-organismos aeróbios mesófilos totais variaram de $2,6 \times 10^2$ a $2,0 \times 10^4$ para fungos e de $1,3 \times 10^3$ a $2,6 \times 10^5$ para bactérias (Tabela 1). Segundo a Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a quente possuem um limite microbiano de $2,0 \times 10^7$ UFC/g para bactérias e $2,0 \times 10^4$ UFC/g para bolores e leveduras.

Tabela 1: Resultados da análise microbiológica de *Peumus boldus* M., *Matricaria Chamomilla* L. e *Pimpinella anisum* L. obtidas na feira-livre e no mercado formal da cidade de Campina Grande,

PB

Droga vegetal	Amostra	Contagem de bolores e leveduras (UFC/g)	Contagem de bactérias (UFC/g)	Coliformes totais (35°C -NMP/g)	Coliformes termotolerantes (45°C -NMP/g)	Presença de patógenos específicos (UFC/25g)
<i>Peumus boldus</i> M. (Boldo)	A	$8,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$	23	<3,0	Negativo
	B	$4,7 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	23	<3,0	Negativo
	C	$4,8 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	<3,0	<3,0	Negativo
<i>Matricaria chamomilla</i> L. (Camomila)	A	$1,1 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$	7,4	< 3,0	Negativo
	B	$1,7 \times 10^4$	$8,7 \times 10^4$	< 3,0	< 3,0	Negativo
	C	$1,2 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	< 3,0	<3,0	Negativo
<i>Pimpinella anisum</i> L. (Erva-doce)	A	$2,0 \times 10^4$	$2,6 \times 10^5$	23	<3,0	Negativo
	B	$2,6 \times 10^2$	$5,8 \times 10^3$	< 3,0	<3,0	Negativo
	C	$2,7 \times 10^2$	$1,0 \times 10^4$	23	<3,0	Negativo

A: amostra adquirida em feira-livre

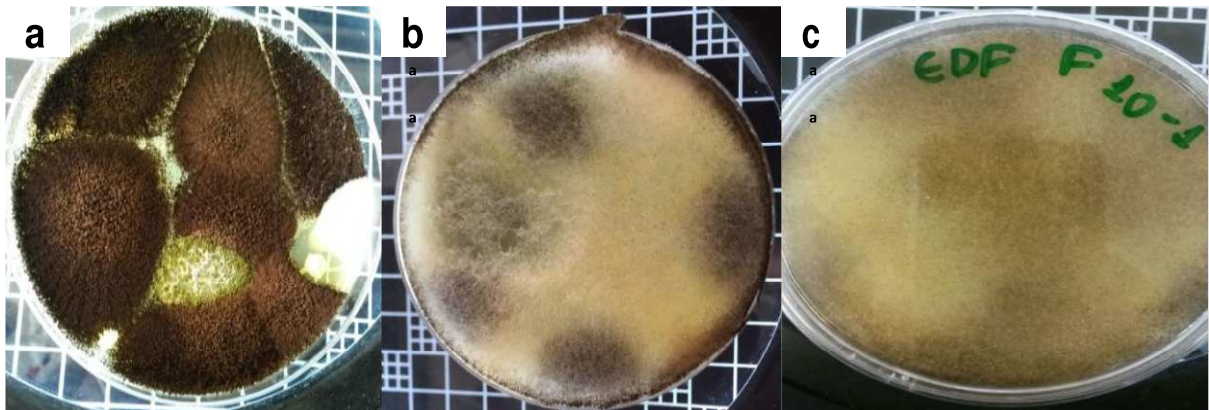
B e C: amostras industrializadas adquiridas no mercado formal

A espécie *Matricaria chamomilla* L. foi a que apresentou maiores índices de contaminação, tanto fúngica como bacteriana, destacando-se a amostra de marca C. *Peumus boldus* Molina mostrou níveis de contaminação elevados tanto na amostra adquirida na feira-livre quanto na

marca B. A amostra de *Pimpinella anisum* L. adquirida em feira-livre apresentou-se mais contaminada quando comparada as marcas B e C, atingindo o limite permitido pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição, que é de $2,0 \times 10^4$ UFC/g para bolores e leveduras. Para *Matricaria chamomilla* L. e *Pimpinella anisum* L., as amostras de marca C apresentaram maiores níveis de contaminação bacteriana, quando comparadas as amostras de marca B.

O crescimento fúngico por toda a superfície da placa mostrou-se bem acentuado em todas as amostras adquiridas em feira-livre (Figura 4). Esses micro-organismos contaminam produtos agrícolas em diferentes fases, como pré-colheita, colheita, processamento e manuseio (MONTEIRO, 2012). De acordo com as características morfológicas, algumas das colônias encontradas são sugestivas de *Aspergillus niger*. Santos et al. (2013) analisaram a contaminação fúngica em plantas medicinais comercializadas em feiras-livres e observaram crescimento em todas as espécies vegetais analisadas, destacando-se os gêneros *Aspergillus* e *Microsporum*, que estiveram presentes em 100% das amostras.

Figura 4: Crescimento fúngico em amostras de *Peumus boldus* M., *Matricaria chamomilla* L. e *Pimpinella anisum* L. comercializadas em feira-livre da cidade de Campina Grande, PB.



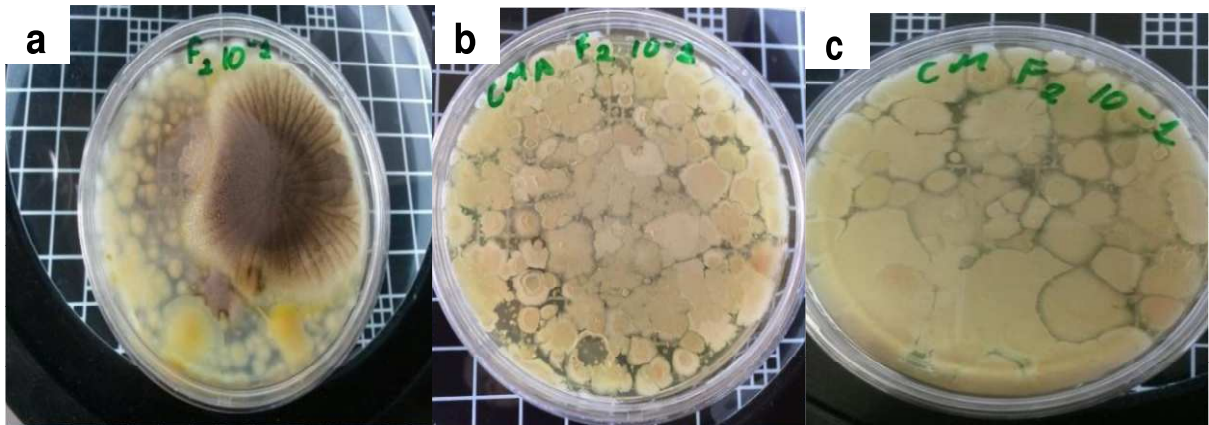
Legenda: a) *Peumus boldus* Molina, diluição 10^{-1} b) *Matricaria chamomilla* L., diluição 10^{-1} e c) *Pimpinella anisum* L., diluição 10^{-1} .

Fonte: Dados da pesquisa

Amostras de *Peumus boldus* Molina e *Matricaria chamomilla* L., adquiridas no mercado formal apresentaram crescimento fúngico próximo dos limites aceitáveis (Figura 5). Contagens elevadas de fungos constituem um risco, em virtude da possibilidade desses organismos causarem

intoxicações por si só ou ainda de serem produtores de micotoxinas, como a aflatoxina, que é uma substância que pode ser carcinogênica mesmo quando em pequenas quantidades (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010).

Figura 5: Crescimento fúngico em amostras de *Peumus boldus* Molina e *Matricaria chamomilla* L. provenientes do comércio formal da cidade de Campina Grande, PB.



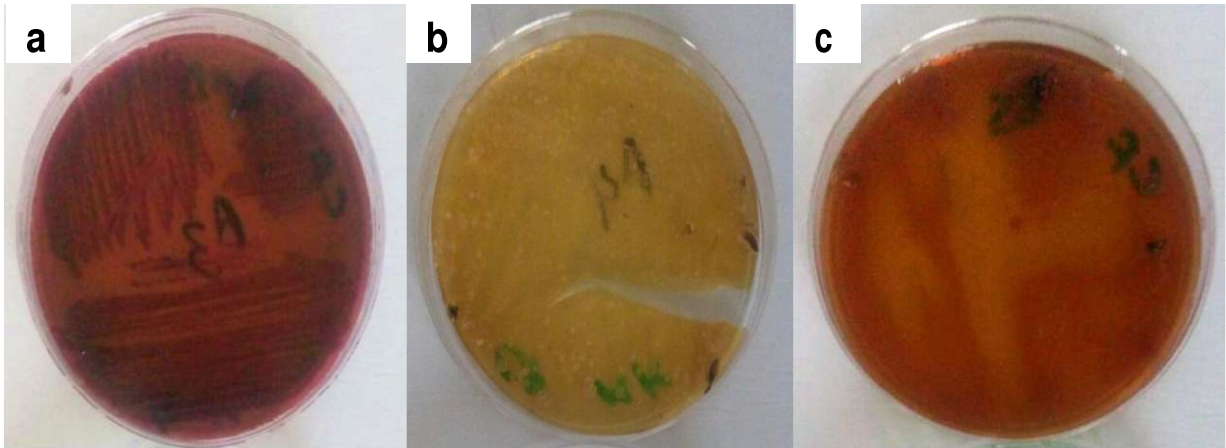
Legenda: a) *Peumus boldus* Molina, marca B, diluição 10^{-1} b) *Matricaria chamomilla* L. marca B, diluição 10^{-1} e c) *Matricaria chamomilla* L. marca C, diluição 10^{-1} .

Fonte: Dados da pesquisa

De acordo com Barbosa et al. (2010) os altos níveis de contaminação fúngica são amplamente favorecidos pelos tricomas foliares assim como pelo contato das plantas com o solo, tornando-se importante a conscientização de agricultores no sentido de adequarem-se às Boas Práticas de Cultivo de Plantas Medicinais, conseqüentemente, assegurar assim a qualidade microbiológica das mesmas. Em 2006, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento elaborou o manual de Boas Práticas Agrícolas de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, dando orientações gerais para o cultivo, beneficiamento e distribuição desses produtos.

A pesquisa de patógenos, dentre eles *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foi realizada em meios diferenciais para esses micro-organismos, que evidenciam características visuais de suas colônias. Houve crescimento bacteriano em alguns dos meios semeados com as respectivas amostras, porém não foram notadas as características particulares dos micro-organismos pesquisados, excluindo-se assim a presença dos mesmos (Figura 6).

Figura 6: Crescimento bacteriano não característico de patógenos em *Matricharia chamomilla* L. adquirida em feira-livre da cidade de Campina Grande, PB.



Legenda: a) Ágar EMB, b) Ágar Müeller-Hinton e c) Ágar *Salmonella-shigella*

Fonte: Dados da pesquisa

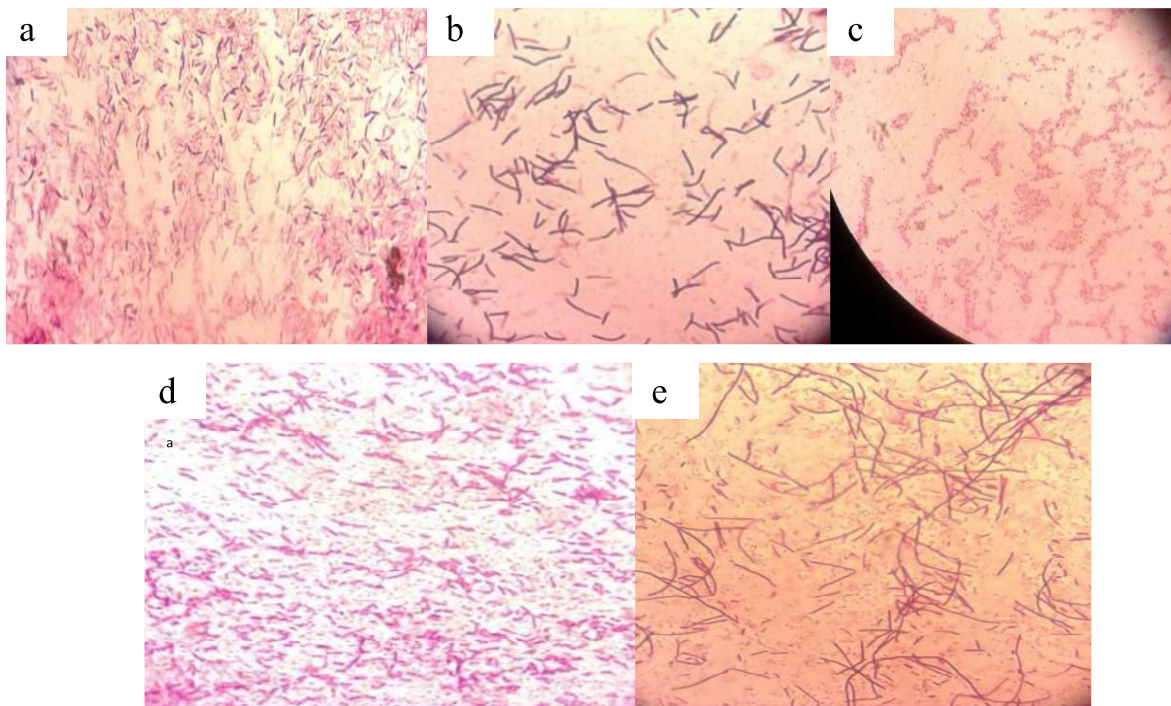
De acordo com a Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, drogas vegetais que serão submetidas a processos de extração a quente devem obedecer a um limite máximo de 10^2 UFC/g de *Escherichia coli* e ausência de *Salmonella* spp. em 10g. Ainda, segundo RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 - que aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos - chá e produtos similares, não obtidos por processamento térmico (secos, desidratados ou não), consumidos após tratamento térmico (infusão e decocção) devem apresentar ausência de *Salmonella* spp./25g. Portanto, todas as amostras analisadas obedecem aos padrões estabelecidos tanto para medicamentos como para alimentos.

Cossatis (2015) analisou a qualidade microbiológica de plantas medicinais comercializadas em farmácias e ervanarias e identificou a presença de *Staphylococcus aureus* e de *Pseudomonas aeruginosa* em 20% das amostras. Duas delas apresentaram contaminação pelas duas bactérias concomitantemente e a ausência de *Salmonella* spp. foi observada em 100% das amostras.

A ausência de micro-organismos patógenos pode ser considerada um bom indicativo da qualidade microbiológica das plantas medicinais estudadas. Sabe-se que enterobactérias como *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. são importantes causadores de infecções, principalmente gastrintestinais. No Brasil, as infecções e/ou intoxicações veiculadas pela água ou alimentos contaminados podem se converter em um grande problema de Saúde Pública (SOUSA, 2006).

Como análise complementar, foi realizada a coloração de Gram para algumas das colônias observadas. As amostras analisadas e os respectivos meios de semeio foram: *Pimpinella anisum* L. (EMB, SS, MH e MS), *Matricaria chamomilla* L. (EMB, SS, MH) e *Peumus boldus* Molina (EMB, MH), adquiridas em feira-livre; *Pimpinella anisum* L. (SS, MH, EMB, MS) e *Matricaria chamomilla* L. (MH), de marca C; *Pimpinella anisum* L. (MH), *Matricaria chamomilla* L. (MH) e *Peumus boldus* Molina (MH), de marca B. Observou-se que bacilos gram-positivos e bastonetes gram-negativos estavam presentes em amostras de *Pimpinella anisum* L., *Matricaria chamomilla* L. e *Peumus boldus* Molina obtidos em feira-livre. As amostras obtidas em mercado formal apresentaram cocobacilos gram-negativos, bacilos gram-negativos e bacilos gram-positivos (Figura 7).

Figura 7: Coloração de Gram de bactérias encontradas em amostras de chás adquiridos em feira-livre e no comércio formal da cidade de Campina Grande, PB



Fonte: Dados da pesquisa

Legenda: a) e b) bacilos gram-positivos, c) cocobacilos gram-negativos, d) bacilo gram-negativo; e) bacilo gram-positivo em cadeia;

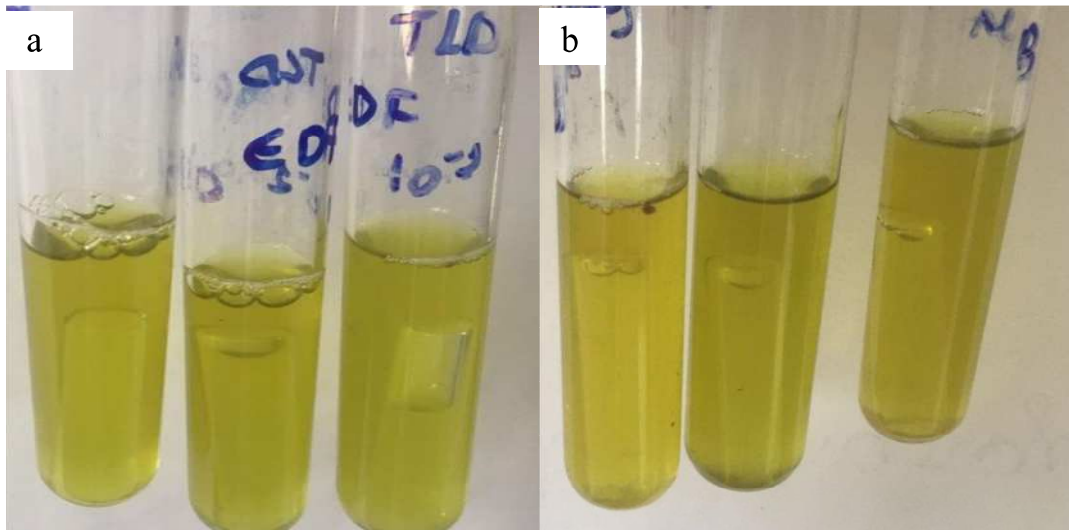
Apesar da coloração de Gram apontar a presença de bacilos gram-negativos nas amostras, característica dos patógenos *E.coli*, *Salmonella* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*, o aspecto das

colônias que cresceram nas placas não se mostrou compatível com as características que deveriam ser apresentadas por esses micro-organismos, como brilho verde metálico em EMB para *E. coli*, produção de pigmento esverdeado em MH para *Pseudomonas aeruginosa* e produção de H₂S, evidenciada por colônias com centro enegrecido em *Salmonella* spp. Assim, presume-se a ausência dos micro-organismos patógenos.

Pereira et al. (2013), analisando a qualidade microbiológica de ervas medicinais comercializadas em feira-livre da cidade de Vitória de Santo Antão, PE, observou que 100% das amostras apresentaram contaminação por bacilos gram-positivos ou gram-negativos. Os bacilos gram-positivos compreendem um amplo grupo de bactérias com características comuns, tanto morfológicas como tintoriais, destacando-se as bactérias capazes de produzir esporos como as do gênero *Clostridium* spp. e *Bacillus* spp., populações microbianas predominantes no solo (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010;).

Com relação à pesquisa de coliformes totais, *Pimpinella anisum* L. e *Peumus boldus* Molina, tanto as amostras adquiridas em feira-livre como uma das marcas adquirida no mercado formal, apresentaram níveis significantes, indicado pela presença de bolhas e/ou turvação do meio verde brilhante, como demonstrado na Figura 8. O grupo de coliformes totais compreende bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de desenvolver, na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ em 24-48 horas (FUNASA, 2013). A presença de coliformes totais não é uma indicação útil de contaminação fecal, pois este grupo inclui diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas como *Serratia* e *Aeromonas* (CONTE et al., 2004).

Figura 8: Resultados da pesquisa de coliformes totais a 35°C



Legenda: a) *Pimpinella anisum* L. adquirida em feira-livre; b) *Pimpinella anisum* L. marca C.

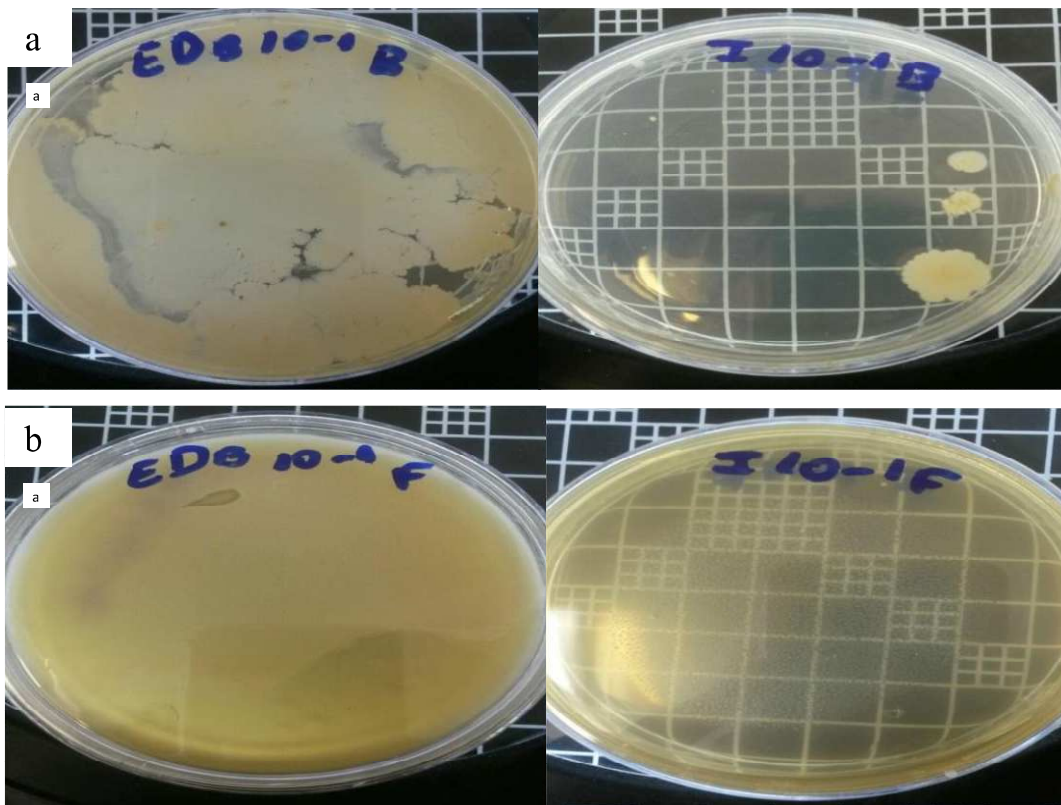
Fonte: Dados da pesquisa

Rocha et al. (2012) analisando a qualidade sanitária de plantas medicinais utilizadas no preparo de chás no município de Currais Novos, RN, observaram que 80% das amostras apresentaram altos níveis de coliformes totais, com valores de até 5×10^5 UFC/g. Freitas e Resende (2012) ao analisarem a presença de coliformes termotolerantes em plantas medicinais comercializadas em feiras-livres e em ervanários da cidade de Brasília, observaram que 35% das amostras apresentavam-se acima dos limites previstos pela RDC N° 12 de 2001 da Agência nacional de Vigilância Sanitária. Tais resultados vão de encontro com os obtidos no presente estudo, onde nenhuma das amostras adquiridas em feira-livre apresentou resultados positivos para os testes de coliformes termotolerantes. Os resultados para as amostras adquiridas no mercado formal também divergem daqueles apresentados por Gomes, Negrelle e Elpo (2008) que observaram a presença de coliformes fecais em 15% das marcas de chás industrializadas que foram analisadas, destacando-se a presença de *E. coli* em uma delas.

Observando-se o efeito da temperatura na redução da carga microbiana presente nas amostras analisadas, constatou-se que o infuso de *Pimpinella anisum* L. adquirida no mercado formal (Figura 9) apresentou uma contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais, igual a $8,5 \times 10$ UFC/mL para bactérias e <10 UFC/mL para fungos, valores bem inferiores àqueles

evidenciados na mesma amostra *in natura* ($1,0 \times 10^4$ UFC/g para bactérias e $2,7 \times 10^2$ UFC/g para fungos).

Figura 9: Eficácia da temperatura na redução da carga microbiana em amostra de *P. anisum* L.



Legenda: a) Crescimento bacteriano em diluição 10^{-1} de *Pimpinella anisum* L. (marca C) e de seu respectivo infuso e b) Crescimento fúngico em diluição 10^{-1} de *Pimpinella anisum* L. (marca C) e de seu respectivo infuso.

Fonte: Dados da pesquisa

Gomes, Negrelle e Elpo (2008), analisando a qualidade microbiológica de chás de *Cymbopogon citratus*, observaram que todos os infusos preparados se apresentaram negativos quanto à contaminação microbiana, quando comparados ao produto seco, independente da temperatura e tempo empregados. Carvalho et al. (2009) analisaram a contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e erva-mate, preparados por infusão à frio, infusão e cocção, observando que o número de UFC/mL nas preparações de camomila e erva-mate por infusão e

coção, processos que empregam temperatura, foram menores quando comparados às preparações à frio.

A maioria dos fungos filamentosos possui limitada resistência térmica e são facilmente destruídos pela aplicação de calor. Algumas espécies como *Byssochlamys*, *Neosartorya* e *Talaromyces* produzem ascósporos, demonstrando alta resistência térmica. Os esporos sexuais (conídios) dos gêneros mais comuns como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, entre outros, são mortos depois de aquecimento por 5 minutos a 60°C (SALOMÃO, 2002; FERREIRA et al., 2009). Para as bactérias, as mesófilas, dentre elas as enteropatogênicas *E. coli* e *Salmonella sp.*, são destruídas em temperaturas acima de 60°C; as psicrotróficas, não resistem a temperaturas acima de 50°C e as termófilas são destruídas em temperaturas acima de 75°C (EMBRAPA, 2005).

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pôde-se observar que as plantas medicinais adquiridas na feira-livre apresentaram uma carga microbiana maior quando comparadas as amostras adquiridas no mercado formal. A contaminação por fungos foi bastante significativa, apesar de que os níveis aceitáveis preconizados na legislação para alimentos e na Farmacopeia Brasileira 5ª edição, não foram excedidos.

A presença de bolores e leveduras nas amostras aponta para a necessidade da identificação dos mesmos, podendo assim detectar a possibilidade da produção de toxinas potencialmente perigosas para a saúde dos seres humanos, como as aflatoxinas.

Nas amostras analisadas não foram detectadas bactérias patogênicas, porém outros tipos de colônias foram encontrados, fazendo-se necessária a continuidade das provas de identificação de acordo com o resultado determinado pela coloração de Gram.

Observou-se que o processamento das espécies vegetais empregando calor para a obtenção do infuso foi efetivo na redução da carga microbiana. Portanto, o preparo correto dos chás, utilizando-se água fervente pelo tempo necessário, pode garantir a qualidade e segurança aos consumidores.

A conscientização dos responsáveis pelo cultivo, processamento e comercialização das plantas medicinais é de extrema importância para que a segurança do consumidor seja garantida. Medidas que garantam as Boas Práticas Agrícolas são necessárias e precisam ser praticadas.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006**. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5813.htm >. Acesso em: 19 mar. 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Disponível em: < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html >. Acesso em: 19 mar. 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o "REGULAMENTO TÉCNICO DE ESPÉCIES VEGETAIS PARA O PREPARO DE CHÁS". Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_267_2005.pdf/7ea89587-bded-4a6a-be91-b0151c277454 >. Acesso em: 04 set. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001** Aprovar o "REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS". Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b >. Acesso em: 04 set. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o "REGULAMENTO TÉCNICO PARA CAFÉ, CEVADA, CHÁ, ERVA-MATE E PRODUTOS SOLÚVEIS". Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_277_2005.pdf/f619e5cc-a347-441c-9192-0ceade035625 >. Acesso em: 04 set. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002**. Aprova o "REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE ROTULAGEM DE ALIMENTOS EMBALADOS". Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_259_2002_COMP.pdf/9c816a4d-2dc7-48bf-80e4-e8891f640cf2 >. Acesso em: 22 fev. 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998**. Aprova o "REGULAMENTO TÉCNICO PARA FIXAÇÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE "CHÁS - PLANTAS DESTINADAS À PREPARAÇÃO DE INFUSÕES OU DECOCCÇÕES"". Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/PORTARIA_519_1998.pdf/0f05b918-ef72-41b3-8dec-02d1944813be>. Acesso em: 22 fev. 2017.

ALMEIDA, M. Z. de. Plantas Medicinais: abordagem histórico contemporânea. In: ALMEIDA, M. Z. de. **Plantas Medicinais**. 3. ed, Salvador, BA: Edufba, 2011,. p. 34-67.

AMARAL, A. C. F.; RODRIGUES, A.G. Aspectos sobre o desenvolvimento da fitoterapia. In: Ministério da Saúde. **Cadernos de Atenção Básica - Práticas integrativas e complementares: Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012, p. 13-17. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/bvs>>. Acesso em: 31 ago. 2016.

ARAÚJO, A.C. et al. Caracterização socio-econômico-cultural de raizeiros e procedimentos pós-colheita de plantas medicinais comercializadas em Maceió, AL. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.11, n. 1, p. 81-91, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722009000100014>. Acesso em: 31 ago. 2016.

ARAÚJO, I. F. M.; SOUZA, L. F.; GUARÇONI, E. A. E.; FIRMO, W. C. A. O comércio de plantas com propriedades medicinais na cidade de Bacabal, Maranhão, Brasil. **Natureza on line**, v. 13, n.3, p. 111-116, 2015.

BADKE, M. R. et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, Santa Maria, v. 15, n. 1, p.132-139, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-81452011000100019> Acesso em: 31 ago. 2016

BAPTISTA, P; ANTUNES, C. **Higiene e Segurança Alimentar na Restauração**. Guimarães: Forvisão - Consultoria em Formação Integrada, S.A , 2005. Disponível em: <https://elearning.iefp.pt/pluginfile.php/50661/mod_resource/content/0/Higiene_e_seguranca_alimentar_na_restauracao_Manual_Iniciacao.pdf>. Acesso em: 01 set. 2016.

BARBOSA, C.K.R. et al. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG. **Revista Biotemas**, Santa Catarina, v. 23, n. 1, p.77-81, 2010. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/viewFile/2175-7925.2010v23n1p77/17471>>. Acesso em: 22 set. 2016.

BARBOSA, M. C. S. et al. Avaliação da qualidade de folhas de boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) comercializadas em Curitiba, PR. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 1, p. 1-4, 2001.

BEKARA, A. et al. Effect of *Pimpinella anisum* L (Aniseed) Aqueous Extract against Lead (Pb) Neurotoxicity: Neurobehavioral Study. **International Journal of Neuroscience and Behavioral Science**, v.3, n.3, p. 32-40, 2015.

BITTENCOURT, S.C.; CAPONI, S.; FALKENBERG, M.B. de. O uso das plantas medicinais sob prescrição médica: pontos de diálogo e controvérsias com o uso popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 12, n.3, p.89-91, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2002000300044>. Acesso em: 01 set. 2016.

BOCHNER, Rosany et al. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 537-547, 2012

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 2011.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Farmacopéia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Fiocruz, 2010.

BRASIL. EMBRAPA. **Elementos de Apoio para Boas Práticas Agropecuárias na Produção Leiteira**. 2ª. ed. Brasília: CampoPAS, 2005. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/854804/1/BOASPRATICASAGROPElementosdeapoioparaboaspraticasagropecuariasnaproducaoleiteira.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Cartilha de Plantas Mediciniais**: Orientações gerais para o cultivo. Brasília: Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo, 2006. 28 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ideal Gráfica e Editora Ltda, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução nº 10, de 9 de março de 2010**. Dispõem sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0010_09_03_2010.html>. Acesso em: 07 set. 2016

CARVALHO, A.C.B. et al. Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p.5-16, 2012. Disponível em: <<http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/132>>. Acesso em: 04 set. 2016.

CARVALHO, L.M. de; COSTA, J.A.M. da; CARNELOSSI, M.A.G. **Qualidade em plantas medicinais**. 1 ed. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010. Disponível em <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2010/doc_162.pdf>. Acesso em: 04 set. 2016.

CARVALHO, S. et al. Contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e erva-mate. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 68, n. 1, p. 91-95, 2009. Disponível em:<<http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v68n1/v68n1a12.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

CARVALHO, A.C.B. et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 5, n. 11, p. 26-32, 2007.

CAVAGLIER, M.C.S. dos; MESSEDER, J.C. Plantas Medicinais no Ensino de Química e Biologia: Propostas Interdisciplinares na Educação de Jovens e Adultos. **Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**, Minas Gerais, v. 14, n. 1, p.55-71, 2014.

CAVALCANTE, R. **Vigilância Sanitária: Do comercio de plantas medicinais e fitoterápicos**. 1 ed. São Paulo: Câmara Brasileira do Livro, 2011.

CONTE, V.D. et al. Qualidade microbiológica de águas tratadas e não tratadas na região Nordeste do Rio Grande do Sul. **Infarma**, Brasília, v.16, n. 11/12, p. 83-84, 2004. Disponível em: <<http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=issue&op=view&path%5B%5D=44&path%5B%5D=showToc>>. Acesso em: 07 jan.2017.

COSSATIS, N.A. de. **Qualidade microbiológica e vigilância sanitária de plantas medicinais brasileiras**. 2015. 85 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária)– Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em:

< https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/9950/2/Dissertacao_Nataly.PDF>. Acesso em: 15 jan. 2017.

COUTINHO, E.P. et al. Condições de higiene das feiras-livres dos municípios de Bananeiras, Solânea e Guarabira. In: Encontro de Extensão Universitária – ENEX, 10., 2008, João Pessoa. **Anais eletrônicos...** João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, 2008. Disponível em: <http://www.prac.ufpb.br/anais/xenex_xienid/x_enex/ANAIS/06_saude.html>. Acesso em: 01 jan. 2017.

CRUZ, E.A.L. da et al. Perfil e utilização de plantas medicinais em quintais da comunidade de salobra grande distrito de Porto Estrela-MT. **Uniciências**, Cuiabá, v. 15, n. 1, p.53-66, 2015. Disponível em: <<http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/uniciencias/article/view/584/552>>. Acesso em: 05 set. 2016.

FERREIRA, E.H.R. et al. Termorresistência de fungos filamentosos isolados de néctares de frutas envasados assepticamente. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 164-171, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjft/v14n3/01.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

FIRMINO, L.A. **Avaliação da qualidade de diferentes marcas de chá verde (camellia sinensis) comercializadas em Salvador-Bahia**. 2011. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

FREIRE, J. M. et al. Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Hook. f. and *Cinnamomum zeylanicum* Blume: chemical and antimicrobial characterization. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 13, n. 2, p. 209-214, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722011000200013&script=sci_arttext>. Acesso em: 29 dez. 2016.

FREITAS, L.O.; RESENDE, A. Análise de coliformes a 45 em plantas medicianai comercializadas em feiras-livres e ervanários do Distrito Federal. **Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 3, 2012. Disponível em: <<http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/ensaioeciencia/article/view/2790>>. Acesso em: 08 jan. 2017.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Manual Prático de Análise de Água**. 4ed.

Brasília: Ministério da Saúde, 2013. Disponível em: < http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf>. Acesso em: 05 jan, 2017.

GOMES, E.C.; NEGRELLE, R.R.B.; ELPO, E.R.S. Determinação da qualidade microbiológica e físico- Determinação da qualidade microbiológica e físico-química de chás química de chás de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (capim (D.C) Stapf (capim-limão). **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 47-54, 2008. Disponível em: < <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/article/view/4396>>. Acesso em: 05 jan. 2017.

GUPTA, S.; SRIVASTAVA, J.K.; SHANKAR, E. Chamomile: a herbal medicine of the past with bright future. **Molecular medicine reports**, v. 3, n. 6, p. 895, 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2995283/>>. Acesso em 28 set.2016.

HOSSEINPOUR, M., et al. Antiproliferative effects of *Matricaria chamomilla* on *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of HerbMed Pharmacology**, v. 2, n. 2, p. 49–51, 2013. Disponível em: < <http://www.herbmedpharmacol.com/Archive/2/2>> . Acesso em 20 set. 2016

LACERDA, J.R.C. et al. Conhecimento popular sobre plantas medicinais e sua aplicabilidade em três segmentos da sociedade no município de Pombal-PB. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Pombal - PB, v. 9, n. 1, p.14-23, 2013. Disponível em: <<http://revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/index>>. Acesso em: 31 ago. 2016.

LIMA, R.K. et al. Composição dos Óleos Essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L. e de Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Avaliação do Efeito Repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **BioAssay**, v. 3, 2009. Disponível em: < <https://www.bioassay.org.br/bioassay/article/viewFile/56/88>>. Acesso em: 29 dez. 2016.

LOPES, G. A. D. et al. Plantas medicinais: indicação popular de uso no tratamento de hipertensão arterial sistêmica (HAS). **Revista Ciência em Extensão**, v.6, n.2, p.143-155, 2010. Disponível em: < <http://repositorio.unesp.br/handle/11449/134426>>. Acesso em: 31 ago. 2016.

LOURENZANI, A.E.B.S.; LOURENZANI, W.L.; BATALHA, M.O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 34, n. 3, p.15-25, 2004. Disponível em: < <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=1271>>. Acesso em: 22 set. 2016.

MARMITT, D.J. et al. Revisão sistemática sobre a produção científica de plantas medicinais da renibus voltadas ao diabetes mellitus. **Caderno Pedagógico**, Lajeado, v. 12, n. 1, p.87-99, 2015.

Disponível em: <<http://www.univates.br/revistas/index.php/cadped/article/viewArticle/1333>>. Acesso em: 04 set. 2016.

MARMITT, D.J. et al. Plantas medicinais da RENISUS com potencial anti-inflamatório: revisão sistemática em três bases de dados científicas. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 2, p.129-144, 2015. Disponível em: <<http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/239>>. Acesso em: 04 set. 2016.

MATTOS, A.A. et al. Levantamento de plantas medicinais comercializadas por raizeiros do mercado municipal central de montes claros – mg. **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde**, Brasília, v. 2, n. 1, p.11-17, 2015. Disponível em: <<http://www.icesp.br/revistas-eletronicas/index.php/RBPeCS/article/view/26>>. Acesso em: 07 set. 2016.

MESSIAS, M.C.T.B. et al. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Rev. Bras. Plantas Med.**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.76-104, mar. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000100076>. Acesso em: 04 set. 2016.

MELO, JG de et al. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata-de-vaca (*Bauhinia* spp.) e gínco (*Ginkgo biloba* L.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p. 111-120, 2004.

MONTEIRO, M.C.P. **Identificação de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do cerrado**. 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/706/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Identifica%C3%A7%C3%A3o%20de%20fungos%20dos%20g%C3%AAneros%20Aspergillus%20e%20Penicillium%20em%20solos%20preservados%20do%20cerrado.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2017

MURTI, K. et al. Pharmacological properties of *Matricaria recutita*: a review. **Pharmacologia**, v. 3, n. 8, p. 348-351, 2012. Disponível em: <<http://pharmacologia.com/abstract.php?doi=pharmacologia.2012.348.351>>. Acesso em: 28 set. 2016.

NICOLETTI, M.A. et al. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. **Infarma**, v. 19, n. 1/2, p. 32-40, 2007.

NOGUEIRA, M.T.D. Boas Práticas Agrícolas, de Colheita e Conservação de Plantas Medicinais. In: FIGUEIREDO, A.C; BARROSO, J.G; PEDRO, L.G (Eds.). **Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais**. 3. ed. Lisboa, Portugal: Centro de Biotecnologia Vegetal – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 2007. p. 63-71.

NUNES, V.T. **CHÁS USADOS COM FINS TERAPÊUTICOS**: um estudo com idosos. 2004. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Enfermagem) – Curso de Enfermagem, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

OLIVEIRA, B.P. **Teor e composição do óleo essencial em amostras comerciais de camomila (*Matricaria chamomilla* L.)**. 2012. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Programa de Pós-graduação em Agroquímica, Univesidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). **Buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales**. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2003.

PEGLOW, K; VELLOSO, C. Por que e como utilizar plantas medicinais. **Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 3, n. 3, p.67-68, 2002. Disponível em: <<http://www.emater.tche.br/site/multimidia/leitor/12.php#book/67>>. Acesso em: 05 set. 2016.

PEREIRA, J.C.N. et al. Análise microbiológica de ervas medicinais na cidade de Vitória de Santo Antão - PE. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 8, p. 205-216, 2013.

PINTO, A.Z.L. de et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais comercializadas no mercado do porto em cuiabá, mato grosso, brasil. **Flovet - Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, Mato Grosso, v. 5, n. 1, p.51-70, 2013. Disponível em: <<http://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/flovet/issue/view/157/showToc>>. Acesso em: 07 set. 2016.

RESTREPO, D.C. et al. Selección del Material Vegetal. In: RESTREPO, D.C. et al. **Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales**. 2. ed. Rionegro: Universidad Católica de Oriente, 2013. p. 17-26.

REZENDE, H.A; COCCO, M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v.36, n. 3, São Paulo, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342002000300011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 28 dez. 2016.

ROCHA, F. A. G. et al. O uso terapêutico da flora na história mundial/ The therapeutic use of flora in world history. **HOLOS**, Rio Grande do Norte, v. 31, n. 1, p.49-61, 2015. Disponível em: <<http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/2492>>. Acesso em: 04 set. 2016.

ROCHA, F.A.G. da, et al. Qualidade sanitária de plantas medicinais utilizadas no preparo de chás no município de Currais Novos, RN. Reunião Anual da SBPC, 64. 2012, São Luis. **Anais eletrônicos...** São Luis: Universidade Federal do Maranhão, 2012 . Disponível em: <<http://www.sbpnet.org.br/livro/64ra/resumos/resumos/4589.htm>>. Acesso em: 05 jan. 2017.

RUIZ, Ana Lúcia TG et al. Pharmacology and toxicology of *Peumus boldus* and *Baccharis genistelloides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 295-300, 2008.

SALOMÃO, B.C.M. **Isolamento, identificação e estudo da resistência térmica de fungos filamentosos termorresistentes em produtos de frutas**. 2002. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

SALVADOR, F.C. et al. Análise microbiológica e de impurezas encontradas na *Pimpinella anisum L.*, comercializadas em lojas de produtos naturais de Apucarana – PR e região. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 4, n. 2, p.140-146, 2011. Disponível em: <<http://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/1630>>. Acesso em: 14 set. 2016.

SANTOS, J.M. **Pesquisa de matérias estranhas em espécie vegetal, Pimpinella anisum L., para o preparo de “chá”**. 2012. 56 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços Vinculados à Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

SANTOS, R.L. et al. Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 34, n. 2, p.289-293, 2013. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewArticle/2338>. Acesso em: 01 set. 2016.

SANTOS, S.L.D.X. et al. Plantas utilizadas como medicinais em uma comunidade rural do semi-árido da Paraíba, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.93, n.1, p.68-79, 2012. Disponível em: <<http://www.rbfarma.org.br/volume-93---n1.html>>. Acesso em: 28 dez. 2016.

SHOJAI, A.; FARD, M.A. Review of Pharmacological Properties and Chemical Constituents of Pimpinella anisum. **International Scholarly Research Network**, v.2012, 2012. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/510795/>>. Acesso em 28 dez. 2016.

SILVA, Á.F.S. et al. Análise bacteriológica das águas de irrigação de horticulturas. **Revista Ambiente & Água: An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, Táubaté, v. 11, n. 2, p.428-438, 2016.

SILVA, B.Q. da; HAHN, S.R. Uso de plantas medicinais por indivíduos com hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus ou dislipidemias. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, São Paulo, v. 2, n. 3, p.36-40, 2011. Disponível em: <<http://www.sbrafh.org.br/rbfhss/index/edicoes/>>. Acesso em 01 set.2016.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F. de A; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4.ed. São Paulo: Varela, 2010. 624 p.

SILVA, N.C.B. da et al. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola da Barra II – Bahia, Brasil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, Caribe, v. 5, n. 11, p.435-453, 2012.

SINGH, O; KHANAM, Z; MISRA, N. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. **Pharmacognosy Reviews**, v. 5, n. 9, p. 82–95, 2011. Disponível em: <<http://www.phcogrev.com/article.asp?issn=0973-7847;year=2011;volume=5;issue=9;spage=82;epage=95;aulast=Singh;type=0>> . Acesso em 21 set. 2016.

SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo

coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista APS**, v. 9, n. 1, p. 83-88, 2006. Disponível em: < file:///C:/Users/thamires/Downloads/4396-13119-1-PB%20(3).pdf >. Acesso em: 03 jan. 2017.

SOUZA, M.R.M.; PEREIRA, R.G.F.; FONSECA, M.C.M. Comercialização de plantas medicinais no contexto da cadeia produtiva em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. spe, p. 242-245, 2012.

SOUZA, M.S.J. de. Uso terapêutico do *Peumus boldus* (boldo-do-chile) como tratamento complementar em doenças crônicas não transmissíveis. Congresso Nacional de Iniciação Científica, 14, São Paulo, 2014. **Anais eletrônicos...** São Paulo, 2014.

SCHWANZ, M. **Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação da boldina em *Peumus boldus* Mol. (*Monimiaceae*) e avaliação preliminar de sua estabilidade.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

TAKAHASHI, L. S. A. T. et al. Condições de armazenamento e tempo de embebição na germinação de sementes de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722009000100001>. Acesso em 28 dez. 2016.

ULLAH, H. et al. Evaluation of anise (*Pimpinella anisum* L.) accessions with regard to morphological characteristics, fruit yield, oil contents and composition. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 29, p. 2177-2186, 2013. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/article/article1380795554_Ullah%20%20et%20al.pdf>. Acesso em 28 dez. 2016.

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. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722013000400004>. Acesso em: 14 set. 2016.

VIEIRA, L. et al. Avaliação da qualidade da água utilizada para irrigação na bacia do Córrego Sujo, Teresópolis, RJ. **Caderno de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p.380-385, 2015.

