

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE/ UNB
CURSO DE FARMÁCIA**

FELLYPE MOREIRA MELO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS NUTRACÊUTICOS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE BRASÍLIA**

**BRASÍLIA, DF
2017**

FELLYPE MOREIRA MELO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS NUTRACÊUTICOS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE BRASÍLIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientador: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

Co-orientador: Profa Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, DF
2017

FELLYPE MOREIRA MELO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PRODUTOS NUTRACÊUTICOS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE BRASÍLIA**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi
(FCE/ Universidade de Brasília)

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(FCE/ Universidade de Brasília)

Prof. Msc. Daniel Oliveira Freire
(Faculdade LS)

BRASÍLIA, DF
2017

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, pois sem Ele nada disso poderia estar acontecendo. Em segundo lugar, agradeço aos meus pais, Maria Moreira e Jose Carlos de Melo, que sempre me apoiaram durante toda a jornada acadêmica e me permitiram, com muito esforço, a conclusão de uma graduação em uma universidade federal. Agradeço aos meus irmãos, Jaqueline Moreira e Jaderson Moreira, que me deram suporte durante todo o processo e sustentaram muitos estresses. Agradeço aos meus amigos, que se ofereceram a me ajudar em qualquer coisa que eu precisasse e que me motivaram a terminar essa luta que é a faculdade. Por fim, mas não menos importante, agradeço aos meus professores que me acompanharam durante a graduação, em especial à Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi e Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, que foram responsáveis pela efetivação deste trabalho e que sempre estavam à disposição, caso eu precisasse tirar alguma dúvida ou me controlar com medo de não dar tempo de entregar as coisas.

RESUMO

No Brasil ainda não há nenhuma orientação oficial sobre o controle de qualidade de produtos nutracêuticos. Considerando o risco potencial de utilização de nutracêuticos com má qualidade higiênico-sanitária, esse trabalho avaliou a qualidade microbiológica de diferentes nutracêuticos comercializados na cidade de Brasília. Foram coletadas seis amostras de produtos nutracêuticos (berinjela, romã, graviola, guaraná com açaí e levedo de cerveja) de cinco marcas diferentes em quatro estabelecimentos que comercializam produtos naturais na cidade de Brasília, DF. As análises microbiológicas realizadas foram: contagem total dos microrganismos mesófilos, contagem total de fungos, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes e pesquisa de *Staphylococcus aureus* e de *Salmonella* sp. Os resultados mostraram que as amostras de guaraná com açaí e de levedo de cerveja apresentaram contagens de bactérias mesófilas acima do permitido pela farmacopeia brasileira ($>1,0 \times 10^4$ UFC/g) para matérias primas de origem natural usadas em preparação para uso oral. E das seis amostras analisadas, quatro amostras (berinjela marca 1, graviola, guaraná com açaí e levedo de cerveja) mostraram contagens de fungos acima do limite permitido pela farmacopeia brasileira ($>1,0 \times 10^2$ UFC/g). A amostra de guaraná com açaí também apresentou enumeração de enterobactérias (coliformes totais) acima do limite permitido pela farmacopeia brasileira ($>1,0 \times 10^2$ NMP/g) e apresentou elevada enumeração de coliformes termotolerantes ($3,7 \times 10^2$ NMP/g). Considerando as recomendações da Farmacopeia Brasileira, quatro amostras (berinjela marca 1, graviola, guaraná com açaí e levedo de cerveja) foram consideradas insatisfatórias para o consumo. Os resultados indicam a necessidade de um controle microbiológico mais rigoroso dos produtos nutracêuticos.

Palavras chave: nutracêuticos; qualidade; contaminação microbiológica

ABSTRACT

In Brazil there is still no official guidance on the quality control of nutraceutical products. Considering the potential risk of using nutraceuticals with poor hygienic-sanitary quality, this work evaluated the microbiological quality of different nutraceuticals marketed in the city of Brasília. Six samples of nutraceutical products (eggplant, pomegranate, graviola, guarana with açai and beer yeast) were collected from five different brands in four establishments that commercialize natural products in the city of Brasília, DF. The microbiological analyzes were: total counting of mesophilic bacteria, total fungal counts, determination of the MPN of total coliforms and of thermotolerant coliforms and detection of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. The results showed that the samples of guarana with açai and beer yeast presented mesophilic bacterial counts above the Brazilian pharmacopoeia ($> 1.0 \times 10^4$ UFC / g) for raw materials of natural origin used in preparation for oral use. Of the six samples analyzed, four samples (eggplant brand 1, graviola, guarana with açai and beer yeast) showed fungal counts above the limit allowed by the Brazilian pharmacopoeia ($> 1.0 \times 10^2$ CFU / g). The sample guarana with açai also presented enumeration of enterobacteria (total coliforms) above the limit allowed by the Brazilian pharmacopoeia ($> 1.0 \times 10^2$ MPN / g) and presented high enumeration of thermotolerant coliforms ($3,7 \times 10^2$ NMP / g). Considering the recommendations of the Brazilian Pharmacopoeia, four samples (eggplant brand 1, graviola, guarana with açai and beer yeast) were considered unsatisfactory for consumption. The results indicate the need for a more rigorous microbiological control of nutraceutical products.

Key words: nutraceutical products; quality; microbiological contamination

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Nutracêuticos: definição e legislação.....	10
1.2 Consumo de berinjela e benefícios à saúde.....	12
1.3 Consumo de frutas como romã, graviola, açaí e benefícios à saúde.....	13
1.4 Consumo de guaraná e benefícios à saúde	15
1.5 Consumo de levedo de cerveja e benefícios à saúde	16
1.6 Controle de qualidade em produtos nutracêuticos	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3. JUSTIFICATIVA	19
4. METODOLOGIA	20
4.1 Coleta e preparo das amostras.....	20
4.2. Contagem total de bactérias mesófilas e fungos	21
4.3. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes	21
4.4. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	23
4.5. Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5.1 Contagem total de bactérias mesófilas e fungos	25
5.2 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes	26
5.3 Determinação da presença de <i>Salmonella</i> spp.	27
5.4 Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	29
6. CONCLUSÕES	30
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos produtos nutracêuticos.....	20
Tabela 2. Número mais provável por grama (NMP/g) para 3 tubos com os inóculos de 0,1, 0,01 e 0,001 ml e os respectivos intervalos de confiança a 95%.....	22
Tabela 3. Contagem total de bactérias mesófilas e contagem total de fungos nas amostras de nutracêuticos.....	26
Tabela 4. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes nas amostras de nutracêuticos.....	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reações bioquímicas das diferentes espécies de bactérias no Agar TSI.....	24
--------------------------------------------------------------------------------------------	----

1. INTRODUÇÃO

1.1. Nutracêuticos: definição e legislação

Os alimentos funcionais e os nutracêuticos comumente têm sido considerados sinônimos, no entanto, os alimentos funcionais são definidos como aqueles alimentos comuns, que quando consumidos como parte da dieta convencional, além da função nutricional, são capazes de produzir benefícios à saúde, tais como a redução do risco de diversas doenças. Nesta definição enquadram-se, por exemplo, alimentos que contribuem para o equilíbrio da flora intestinal, como leites fermentados contendo bifidobactérias (BALDISSERA et al., 2011; PEDROSA, 2015).

Os nutracêuticos podem ser definidos como produtos concentrados, isolados ou purificados de alimentos e que demonstrem ter benefícios fisiológicos e à saúde, incluindo a prevenção e o tratamento de doenças. Geralmente são comercializados na forma de produtos farmacêuticos, como cápsulas, comprimidos, tabletes, pós, granulados, pastilhas, suspensões e soluções. Essa variedade de produtos não pode ser classificada como alimentos, sendo então um termo híbrido entre nutrientes e medicamentos. A palavra nutracêutico nasceu da fusão entre “nutrição” e “farmacêutico” com o intuito de distinguir os compostos bioativos dos alimentos dos medicamentos (LIRA et al., 2009; PEDROSA, 2015). No entanto, vários órgãos regulatórios de diferentes países não reconhecem a definição de nutracêutico, enquadrando estes compostos de diferentes formas (LIRA et al., 2009).

O Canadá é um dos poucos países que faz uma diferenciação legal entre alimentos funcionais e nutracêuticos. De acordo com o Ministério da Saúde canadense, alimento funcional é “similar em aparência ou pode ser um alimento convencional, consumido como parte da dieta normal que demonstrou possuir benefícios fisiológicos ou reduzir o risco de doenças crônicas, além de suas funções nutricionais básicas”, enquanto que nutracêutico é “um produto isolado ou purificado de alimentos que é geralmente vendido na forma medicinal não normalmente associado com alimento, que tenha demonstrado possuir um benefício fisiológico ou prover proteção contra uma doença crônica” (CANADÁ, 1998).

Nos Estados Unidos, o termo nutracêutico não é reconhecido oficialmente, no entanto, por suas características, um nutracêutico poderia ser enquadrado, parcialmente, como um suplemento dietético. Suplemento dietético é definido como “um alimento, na sua forma não convencional, que provê um componente para suplementar a dieta, através do aumento total da ingestão diária deste componente”. O órgão regulatório dos EUA, *Food and Drug Administration* (FDA), permite que os suplementos dietéticos sejam comercializados sem a necessidade de serem submetidos à aprovação do FDA. Como consequência, muitos produtos que contêm substâncias com potencial efeito farmacológico, têm sido vendidos livremente como ingredientes de suplementos dietéticos nos Estados Unidos (LIRA et al., 2009).

A legislação brasileira não reconhece oficialmente o termo nutracêutico, entretanto, define substância bioativa, que é a definição oficial mais compatível com o termo nutracêutico (LIRA et al. 2009). No Brasil, a legislação define substância bioativa como o nutriente com ação metabólica ou fisiológica específica no organismo, devendo estar presente em fontes alimentares, seja de origem natural ou sintética, sem finalidade medicamentosa ou terapêutica. O produto deve ser seguro para o consumo humano, sem necessidade de orientação e ou acompanhamento médico. Excluem-se desta categoria: chás; alimentos para praticantes de atividade física; produtos cuja finalidade de uso indique ação terapêutica ou medicamentosa; produtos fitoterápicos; suplemento vitamínico e ou de mineral; alimentos para nutrição enteral (BRASIL, 2002).

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 1999), os alimentos comercializados em forma de cápsulas, comprimidos ou outras fórmulas farmacêuticas e que não apresentem alegação de propriedade funcional ou de saúde cientificamente comprovada, deverão trazer no rótulo a seguinte informação: “O Ministério da Saúde adverte: Não existem evidências científicas comprovadas de que este alimento previna, trate ou cure doenças”. Esses alimentos devem ser registrados na categoria de Novos Alimentos, caso não tragam alegações de propriedade funcional e ou de saúde (BRASIL 1999; BRASIL, 2008). Na lista de novos ingredientes aprovados nas formas de cápsulas, comprimidos e tabletes estão açaí, berinjela, guaraná e levedo de cerveja (BRASIL, 2008).

1.2. Consumo de berinjela e benefícios à saúde

A berinjela (*Solanum melongena* L.) vem sendo amplamente consumida no Brasil e em outros países por ter efeito hipocolesterolêmico. Vários efeitos benéficos à saúde são atribuídos ao consumo da berinjela como: redução do peso corpóreo, ação diurética, hipoglicemiante e hipolipemiante. Essas propriedades funcionais da berinjela são devidas aos elevados teores de fibras alimentares e compostos antioxidantes em sua composição (CARVALHO & LINO, 2014; GONÇALVES et al., 2006 a; ROSA et al., 2011).

Fibra alimentar é um composto que resiste total ou parcialmente à digestão no trato digestório de humanos. Dessa forma a fibra alimentar serve de substrato para a microbiota normalmente presente no intestino grosso, modula a velocidade de digestão e absorção dos nutrientes e também promove um aumento do trânsito intestinal prevenindo a constipação. Os efeitos das fibras alimentares no trato gastrintestinal têm importantes consequências metabólicas que podem resultar em redução do risco de doenças cardiovasculares, de certos tipos de câncer e de *diabetes mellitus* (Tipo 2) (CARVALHO & LINO, 2014; GONÇALVES et al., 2007).

Assim, por seu elevado teor de fibras, a berinjela é uma boa opção a ser introduzida no cardápio, podendo ser consumida in natura (100 g de berinjela in natura contêm 2,9 g de fibras alimentares). Outra opção de consumo da berinjela é na forma seca (farinha ou pó de berinjela), onde 100 g da farinha contem 44,1% de fibras alimentares (DAS et al., 2011; PEREZ & GERMANI, 2004; SANTOS et al. 2002).

Além das fibras, a berinjela apresenta compostos que exercem função antioxidante como às saponinas, as niacinas e os flavonóides. Os antioxidantes são substâncias que ajudam a combater os radicais livres, o que restringe os efeitos maléficos destes no organismo humano (CARVALHO & LINO, 2014).

Alguns estudos avaliaram o efeito hipolipemiante da berinjela (DAS et al., 2011; GONÇALVES et al., 2006 b; ROSA et al., 2011). Gonçalves et al. (2006 b) estudaram o efeito de cápsulas de berinjela (*Solanum melongena* L.), administradas a mulheres com dislipidemias. As cápsulas foram preparadas com 360 mg de berinjela seca, cuja posologia foi: 3 cápsulas ao dia, ingeridas antes das refeições, por 90 dias. As pacientes também foram submetidas a um

controle nutricional através da prescrição de uma orientação dietoterápica individual, pobre em gordura saturada e colesterol. Ao comparar os valores médios do colesterol e suas frações (LDL, VLDL e TG), após 90 dias, observou-se no grupo experimental, redução em todos os parâmetros analisados.

1.3. Consumo de frutas como romã, graviola, açaí e benefícios à saúde

A romã (*Punica granatum* L.) é uma fruta originária do Oriente Médio. O suco da romã apresenta em sua composição compostos fenólicos como: antocianinas (delfinidina, cianidina e pelargonidina), quercetina, ácidos fenólicos (caféico, catequínico, clorogênico, *orto* e *paracumárico*, elágico, gálico e quínico) e taninos. Os compostos fenólicos presentes na romã além de atuarem como antioxidantes naturais são os responsáveis pela intensa coloração avermelhada do suco, a qual é um dos parâmetros de qualidade que mais influencia na aceitação sensorial dos consumidores (JARDINI & FILHO, 2007).

O potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade dele como um doador de elétrons ou hidrogênio, capacidade de deslocar ou estabilizar um elétron desemparelhado, reatividade com outro antioxidante e reatividade com oxigênio molecular. Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células (MORAES & COLLA, 2006).

A formação de radicais livres está associada com o metabolismo normal de células aeróbicas. O consumo de oxigênio inerente à multiplicação celular leva a geração de uma série de radicais livres. A interação destas espécies com moléculas de natureza lipídica em excesso produz novos radicais: hidroperóxidos e diferentes peróxidos. Estes grupos de radicais podem interagir com os sistemas biológicos de formas citotóxicas (MORAES & COLLA, 2006). Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, formados pela ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (SOARES, 2002).

Trabalhos experimentais demonstraram que os compostos fenólicos da romã mostram capacidade de atenuação de fatores aterogênicos como diminuição do LDL, diminuição da pressão arterial e diminuição da agregação plaquetária (AVIRAN et al., 2000; AVIRAN & DORNFELD, 2001), modulação das respostas anti-inflamatórias (ROSS et al., 2001) e modulação de enzimas do sistema de defesa antioxidante endógeno (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase). O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres. (AJAIKUMAR et al., 2005).

A gravioleira é uma planta tropical originária das Américas central e do sul que produz os frutos popularmente conhecidos como graviola (*Annona muricata* L.). Na medicina natural, partes da gravioleira (cascas, raízes, folhas, polpa e sementes) ricas em compostos bioativos têm sido utilizadas para fins terapêuticos e estudos recentes discutem sua promissora ação anticancerígena (HAMIZAH et al., 2012; HANSRA et al., 2014; MOGHADAMTOUSI et al., 2015; TORRES et al., 2012).

Pesquisas vêm apontando que a polpa da graviola e seus resíduos são excelentes fontes de minerais e de compostos bioativos, com destaque para os compostos fenólicos. Atualmente foi descrita uma nova propriedade relacionada ao fruto: sua ação contra células cancerígenas, devido à presença das acetogeninas resultante da combinação de ácidos graxos de longa cadeia (C32 e C34) com uma unidade 2-propanol no carbono 2 para formar uma lactona terminal, que inibem o crescimento das células cancerosas, mantendo a integridade das células dos tecidos saudáveis (HANSRA et al., 2014).

A espécie vegetal *Euterpe oleracea* Mart, popularmente conhecida como açaizeiro, é uma palmeira que ocorre de forma espontânea na região amazônica, amplamente distribuída na floresta de várzea, estendendo-se desde o Brasil até a Venezuela e Guianas. O açaí, fruto da palmeira do açaizeiro, tem recebido muita atenção nos últimos anos, devido aos benefícios a saúde associado com a alta capacidade antioxidante dos seus compostos bioativos. O Brasil se posiciona como o maior produtor, consumidor e exportador de polpa de açaí (ALMEIDA et al., 2004; MENEZES et al., 2008).

A polpa de açaí apresenta elevado valor energético por conter alto teor de lipídeos como Ômega 6 e 9, além de carboidratos, fibras, vitamina E, proteínas, minerais (Mn, Fe, Zn, Cu, Cr) e grande quantidade de antioxidantes. Antocianinas, proantocianidina e outros flavonóides são os fitoquímicos predominantes, mas as antocianinas são os compostos que mais contribuem com a capacidade antioxidante da polpa do açaí. No estudo de Menezes et al. (2008) a polpa do açaí liofilizada mostrou alto valor calórico (489,39 kcal/100g), devido principalmente ao elevado conteúdo lipídico (40,75%) dos quais 52,70% representados pelo ácido oleico (ômega 9) e 25,56% pelo ácido palmítico. Os carboidratos totais somaram 42,53% e o teor de proteínas foi de 8,13% na polpa liofilizada. Os minerais observados em maior abundância foram potássio (900 mg), cálcio (330 mg) e magnésio (124,4 mg) em 100 g de polpa liofilizada.

A polpa do açaí possui vários antioxidantes, mas as antocianinas, proantocianidina e outros flavonóides são os compostos bioativos predominantes. As antocianinas são pigmentos hidrossolúveis responsáveis pela cor vermelha escura (violácea) característica da polpa do açaí. Quanto mais escura a polpa do açaí, maior será a concentração de antocianinas (DEL POZO-INSFRAN et al., 2004; SANTOS et al., 2008).

Trabalhos experimentais demonstraram que as antocianinas da polpa de açaí mostram capacidade antioxidante (LICHTENTHÄLER et al., 2005), antiinflamatória (SCHAUSS et al., 2009), ação imunomoduladora (HOLDERNESS et al. 2011) e melhora do perfil lipídico (SOUZA et al., 2010). Souza et al. (2010) investigaram o efeito hipocolesterolêmico da ingestão de polpa de açaí seca na proporção de 2% em ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica durante seis semanas. Os resultados mostraram que os animais que receberam a dieta hipercolesterolêmica apresentaram aumento nos níveis de colesterol total (CT) e LDL. A suplementação deste grupo com açaí causou um efeito hipocolesterolêmico, reduzindo os níveis de CT e LDL.

1.4. Consumo de guaraná e benefícios à saúde

O guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) é uma planta trepadeira originária da Amazônia, podendo atingir 10 m de altura, gerando cachos com até 50 frutos, cada qual possuindo de uma a três sementes, sendo um produto

legitimamente brasileiro. A semente é a parte utilizável da planta, a qual é seca e moída para a obtenção do pó de guaraná. O guaraná em pó possui alto conteúdo de cafeína (de 2,5 a 6,0%). Possui também propriedades antioxidantes, devido à presença de taninos do tipo catequina e/ou epicatequinas (RIBEIRO et al., 2012). O conteúdo de cafeína do guaraná é 4 vezes maior que o do café e 30 vezes maior do que o do cacau (EDWARDS et al., 2005).

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é a droga mais consumida mundialmente por adultos, podendo ser encontrada em inúmeros alimentos e bebidas como no chocolate, café, refrigerantes e outros. Em termos fisiológicos, a cafeína age como estimulante, aumentando a atividade do sistema nervoso central (AGUIAR et al., 2012).

Os efeitos comportamentais mais notáveis da cafeína ocorrem após a ingestão de doses baixas a moderadas (50 a 300 mg) deste composto, verificando-se uma melhoria na performance cognitiva e psicomotora do consumidor (melhoria do estado de alerta, da energia, da capacidade de concentração, do desempenho em tarefas simples, da vigilância auditiva, do tempo de retenção visual e diminuição da sonolência e do cansaço). Até o momento não foi provado que o consumo moderado de cafeína (aproximadamente 300mg/dia) possa acarretar em riscos para a saúde. Porém, doses elevadas de cafeína podem induzir efeitos negativos, tais como: taquicardia, insônia, ansiedade, tremores, dores de cabeça e náuseas (HIGDON & FREI, 2006).

1.5. Consumo de levedo de cerveja e benefícios à saúde

O levedo de cerveja é composto por células inteiras e secas de *Saccharomyces cerevisiae* e deve conter, no mínimo, 40% de proteínas, e em cada grama, o equivalente de, no mínimo, 0,12 mg de cloridrato de tiamina (vitamina B1), 0,04mg de riboflavina (vitamina B2) e 0,25 mg de niacina (vitamina B3). O levedo de cerveja é um complemento nutricional de proteínas e vitaminas do complexo B (B1, B2 e B3) e a sugestão de uso são de 6 a 8 g diárias do pó ou o equivalente em comprimidos (PINTO, 2011).

1.6. Controle de qualidade em produtos nutracêuticos

Em relação ao controle de qualidade, no Brasil ainda não há nenhuma orientação oficial sobre os procedimentos de controle de qualidade de nutracêuticos (LIRA et al., 2009). Ao considerar os produtos nutracêuticos de origem vegetal, verifica-se a importância da qualidade microbiológica, pois fatores como poluição da água de irrigação, solo contaminado com material fecal, condições de colheita, manipulação, secagem e armazenamento determinam a qualidade das matérias-primas e influenciam a qualidade microbiológica dos nutracêuticos (FRAGOSO et al., 2008; OKUNLOLA et al., 2007).

No Brasil, os limites microbianos para matérias primas de origem natural (vegetal, mineral ou animal) usadas em preparação para uso oral são: bactérias totais aeróbias no máximo $1,0 \times 10^4$ UFC/g, leveduras e fungos no máximo $1,0 \times 10^2$ UFC/g, enterobactérias e outros microrganismos Gram negativos no máximo $1,0 \times 10^2$ UFC/g, sendo que microrganismos potencialmente patogênicos como *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* devem estar ausentes (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Considerando o risco potencial de aquisição e utilização de nutracêuticos com má qualidade higiênico-sanitária, esse trabalho através das análises microbiológicas de diferentes nutracêuticos comercializados na cidade de Brasília visou determinar se esses produtos estão sendo comercializados com segurança alimentar para o consumidor.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as condições microbiológicas de diferentes produtos nutracêuticos comercializados na cidade de Brasília e assim determinar se esses produtos estão sendo comercializados com segurança alimentar para o consumidor.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar nas amostras as análises microbiológicas: contagem total dos microrganismos mesófilos, contagem total de fungos, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes, contagem de *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* sp.

3. Justificativa

O aumento de interesse dos consumidores por nutracêuticos incentiva cada vez mais o desenvolvimento e a entrada de novos produtos no mercado. O uso dos nutracêuticos cresce à medida que esses produtos chegam ao mercado com a promessa de serem eficazes e seguros. Entretanto, no Brasil ainda não há nenhuma orientação oficial sobre os procedimentos de controle de qualidade de nutracêuticos. Sem uma legislação específica, não há como garantir um produto de qualidade aos consumidores. Assim, o presente trabalho é importante para avaliar as condições microbiológicas de diferentes nutracêuticos comercializados na cidade de Brasília e assim determinar se esses produtos estão sendo comercializados com segurança alimentar para o consumidor.

4. Métodos

4.1. Coleta e preparo das amostras

Foram coletadas seis amostras de produtos nutracêuticos (berinjela, romã, graviola, guaraná com açaí e levedo de cerveja) de cinco marcas diferentes em quatro estabelecimentos que comercializam produtos naturais na cidade de Brasília, DF, no período de fevereiro a abril de 2017. A tabela 1 apresenta a descrição dos produtos nutracêuticos declarada nos rótulos das embalagens:

Tabela 1. Descrição dos produtos nutracêuticos

Amostras	Ingredientes	Apresentação
Berinjela marca 1	Berinjela em pó e amido de milho	Cápsulas de gelatina de 400 mg
Berinjela marca 2	Berinjela em pó	Cápsulas de gelatina de 450 mg
Romã marca 3	Romã em pó e maltodextrina. Colorido artificialmente (corantes vermelho 40, azul brilhante e dióxido de titânio)	Cápsulas de gelatina de 350 mg
Graviola marca 3	Graviola em pó e maltodextrina	Cápsulas de gelatina de 500 mg
Guaraná com açaí marca 4	Guaraná em pó, açaí em pó e gelatina. Colorido artificialmente (corantes óxido de ferro vermelho, azul brilhante, eritrosina e dióxido de titânio)	Cápsulas de gelatina de 500 mg
Levedo de cerveja marca 5	Levedo de cerveja (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>), antiumectantes celulose e dióxido de silício e lubrificante estearato de magnésio	Comprimidos de 400 mg

Para o preparo das amostras, as cápsulas foram abertas em 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v) estéril, obtendo-se assim a diluição (10^{-1}). No caso do levedo de cerveja distribuiu-se o total de comprimidos em 225 mL de água peptonada 0,1% (p/v) estéril, em triplicata. A partir desta primeira diluição, foram realizadas as demais diluições decimais seriadas em água peptonada 0,1% (p/v) até a diluição 10^{-4} .

As análises microbiológicas realizadas foram: contagem total dos microrganismos mesófilos, contagem total de fungos, determinação do Número

Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes, e pesquisa de *Staphylococcus aureus* e de *Salmonella sp.* As análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados como média e desvio padrão.

4.2 Contagem total de bactérias mesófilas e fungos

Para contagem total de bactérias mesófilas, inoculou-se 0,1 mL de cada diluição na superfície das placas contendo o meio de cultivo Agar Padrão para Contagem. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas para bactérias mesófilas. Para contagem total de fungos, inoculou-se 0,1 mL de cada diluição na superfície das placas contendo o meio de cultivo Agar Sabouraud Dextrose. As placas foram incubadas a temperatura ambiente por 5-7 dias. Após incubação, as colônias foram contadas, multiplicando-se o valor encontrado pelo fator de diluição correspondente, e expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de amostra (UFC/g).

4.3. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes

Para a determinação do NMP de coliformes, inoculou-se 1 mL de cada diluição em uma série de 3 tubos de ensaio contendo caldo lactosado (lactose 0,5% (p/v), peptona bacteriológica 0,5% (p/v) e extrato de carne 0,3% (p/v)) e tubos de Durham invertidos e a incubou-se a 37°C durante 24 horas. Após a incubação foi verificado os tubos positivos (com turvação e produção de gás nos tubos de Durham) e estes foram considerados prova presuntiva positiva para coliformes totais.

Alíquotas de 1 mL dos tubos positivos no caldo lactosado foram transferidas, concomitantemente, para o caldo verde brilhante bile lactose 2% (caldo VB, para a confirmação de coliformes totais) e para o caldo *Escherichia coli* (caldo EC, para a confirmação de coliformes termotolerantes). Os tubos contendo caldo VB foram incubados a 37°C por 24 horas. A presença de gás indicou prova confirmatória positiva para coliformes totais. Os tubos contendo caldo EC foram incubados em banho-maria a 45°C por 24 horas. A presença

de gás indicou prova confirmatória positiva para coliformes termotolerantes. Através da Tabela 2 foi obtido o NMP de coliformes totais e de coliformes termotolerantes por grama da amostra (NMP/g).

Tabela 2. Número mais provável por grama (NMP/g) para 3 tubos com os inóculos de 0,1, 0,01 e 0,001 ml e os respectivos intervalos de confiança a 95%.

Tabela para 3 tubos, cada um com inoculo de 0.1, 0.01 e 0.001 ml, os NMPs por grama e os intervalos de confiança a 95%.											
Tubos positivos			NMP/g	Limite de confiança		Tubos positivos			NMP/g	Limite de confiança	
0.10	0.01	0.001		Baixo	Alto	0.10	0.01	0.001		Baixo	Alto
0	0	0	<3.0	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

FONTE:

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods>

4.4 Pesquisa de *Salmonella sp.*

Para a pesquisa de *Salmonella sp.*, a diluição 10^{-1} das amostras foi incubada à 37°C por 24 horas. Esta fase é caracterizada como pré-enriquecimento geral. Após a incubação, alíquotas de 1 mL foram transferidas para caldo de enriquecimento selenito-cistina e incubadas a 37°C por 24 horas. Esta fase é caracterizada como enriquecimento seletivo. Após a incubação, procedeu-se à técnica de isolamento, onde a partir de cada tubo, semeou-se em esgotamento em estrias para isolamento em placas de Petri, contendo o meio ágar *Salmonella Shigella* (Ágar SS).

As colônias não fermentadoras de lactose e/ou com pigmento negro foram reisoladas em ágar *Salmonella Shigella* para obtenção de colônias puras e então estas foram transferidas para meio de cultivo contendo ágar TSI (três açúcares e ferro). Este meio contém três açúcares: glicose (0,1%), lactose (1%) e sacarose (1%), além do indicador vermelho de fenol para detecção da fermentação de carboidratos. A fermentação de carboidratos é indicada pela mudança da cor do meio de vermelho para amarelo. Se o microrganismo em estudo for capaz de produzir sulfeto de hidrogênio (H_2S), este se conjuga com um composto de ferro existente no meio, dando origem a sulfeto de ferro que, sendo insolúvel, precipita e tem cor negra (indicado pela cor preta na base do tubo) (ANVISA, 2010).

No ágar TSI, enterobactérias como *E. coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella* fermentam a glicose e a lactose e/ou sacarose (2 ou 3 açúcares do meio) tornando a base e a superfície do tubo de cor amarela e geralmente é possível detectar a presença de gás (CO_2) pela formação de bolhas e/ou fragmentação do meio. Quando a superfície do meio está vermelha e a base amarela significa que ocorreu fermentação apenas da glicose (ficando a lactose e a sacarose sem fermentação). Os microrganismos degradam, preferencialmente, a glicose em primeiro lugar, mas como este substrato está presente em concentração mínima, à quantidade de ácido produzida é limitada e é rapidamente oxidada na superfície. Se houver produção de sulfeto de ferro a base do meio torna-se negra (Figura 1). Essa reação é característica de enterobactérias não fermentadoras de lactose como *Shigella* e também produtoras de H_2S como *Salmonella* (ANVISA, 2010).

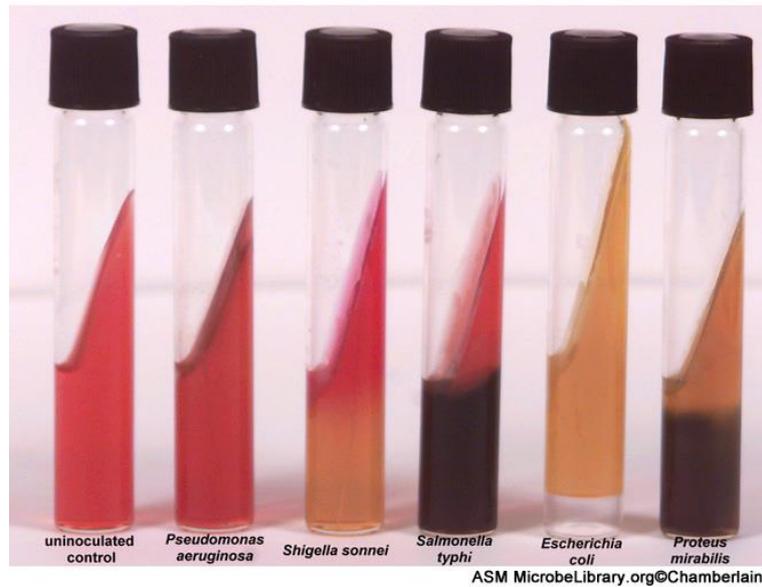


Figura 1. Reações bioquímicas das diferentes espécies de bactérias no Agar TSI

Fonte: ASM microbelibrary.org

4.5 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

Para a pesquisa de *Staphylococcus aureus*, as amostras foram semeadas em meio de cultivo Agar PCA suplementado com cloreto de sódio 7,5% (p/v) e incubadas a 37°C por 48 h. Após incubação, as colônias isoladas foram semeadas em ágar Sal Manitol e incubadas em 37°C por 48h. As colônias fermentadoras de manitol foram contadas e posteriormente coradas pelo método de Gram.

5. Resultados e Discussão

5.1. Informações contidas no rótulo dos produtos

Todas as amostras continham registro no Ministério da Saúde (ANVISA), sendo que 2 amostras foram produzidas em indústrias farmacêuticas, 3 amostras foram produzidas em indústrias de alimentos e 1 amostra foi produzida em indústria de produtos naturais. Nenhuma das indústrias registrou a alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde nos seus produtos, portanto esses produtos foram registrados como Novos Alimentos, conforme a legislação estabelece (BRASIL 1999; BRASIL, 2008).

A informação obrigatória: “O Ministério da Saúde adverte: Não existem evidências científicas comprovadas de que este alimento previna, trate ou cure doenças”, estava presente em todas as amostras. A informação: “Gestantes, nutrízes e crianças somente devem consumir este produto sob orientação de nutricionista ou médico” estava presente em 4 amostras (romã, graviola, guaraná com açaí e levedo de cerveja). Essa informação é obrigatória para produtos contendo guaraná.

Todas as amostras continham tabela de informação nutricional, com o valor energético dos produtos. Todas as amostras continham recomendação diária de consumo (berinjela marca 1 – 3 cápsulas; berinjela marca 2 – 8 cápsulas; romã – 4 cápsulas; graviola – 4 cápsulas; guaraná com açaí – 6 cápsulas; levedo de cerveja – 9 cápsulas).

Segundo a legislação (BRASIL, 2008) produtos contendo guaraná devem declarar a quantidade de cafeína presente na porção recomendada pelo fabricante, próximo à tabela de informação nutricional. No rótulo foi declarado que cada cápsula contém 19 mg de cafeína e que a recomendação diária de ingestão de cápsulas fornece 57 a 114 mg de cafeína. O limite diário máximo de consumo de cafeína recomendado é de 400 mg (HIGDON & FREI, 2006).

5.2. Contagem total de bactérias mesófilas e fungos

A tabela 3 apresenta os resultados da contagem total de bactérias mesófilas e da contagem total de fungos nas amostras de nutracêuticos.

Tabela 3. Contagem total de bactérias mesófilas e contagem total de fungos nas amostras de nutracêuticos

Amostras	Bactérias	Fungos
	UFC/g	UFC/g
Beringela marca 1	ND	$6,7 \times 10^3$
Beringela marca 2	$1,1 \times 10^3$	$2,0 \times 10^4$ *
Romã	$4,7 \times 10^3$	ND
Graviola	$3,3 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$
Guaraná com açaí	$1,9 \times 10^5$	$4,7 \times 10^4$
Levedo cerveja	$4,1 \times 10^4$	$4,0 \times 10^3$

Os resultados foram expressos como média de análises em triplicata

DP = desvio padrão

* somente 1 placa apresentou colônias

No Brasil, os limites microbianos para matérias primas de origem natural (vegetal, mineral ou animal) usadas em preparação para uso oral são: bactérias totais aeróbias no máximo $1,0 \times 10^4$ UFC/g e leveduras e fungos no máximo $1,0 \times 10^2$ UFC/g (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Neste estudo, as amostras de guaraná com açaí e de levedo de cerveja apresentaram contagens de bactérias mesófilas ($1,9 \times 10^5$ e $4,1 \times 10^4$ UFC/g) acima do permitido pela farmacopeia brasileira. E das seis amostras analisadas, quatro amostras (berinjela marca 1, graviola, guaraná com açaí e levedo de cerveja) mostraram contagens de fungos acima do limite permitido pela farmacopeia brasileira ($4,0 \times 10^3$ a $4,7 \times 10^4$ UFC/g).

Algumas pesquisas com análises microbiológicas de drogas vegetais secas têm reportado contagens elevadas de bactérias e fungos (SCHÜTZ et al., 2008; ZARONI et al., 2004). No trabalho de ZARONI et al. (2004) foram

analisadas 72 amostras de plantas medicinais secas, enviadas por produtores de sete regiões do Estado do Paraná. Os níveis encontrados de contaminação por microrganismos aeróbios totais variaram de $2,0 \times 10^2$ a $1,7 \times 10^7$ UFC/g, sendo que 45,83% das amostras apresentaram cargas entre 10^5 e 10^6 UFC/g. A contaminação por bolores e leveduras das drogas vegetais analisadas variou de $1,0 \times 10^2$ a $8,4 \times 10^6$ UFC/g, com maior frequência de amostras com cargas de 10^5 UFC/g (36,11%). Contagens elevadas de fungos constituem um risco a saúde, em virtude da possibilidade desses serem produtores de micotoxinas, como a aflatoxina, que é uma substância cancerígena.

No estudo de SCHÜTZ et al. (2008) foram avaliadas 27 amostras de três espécies vegetais: ginko biloba (*Ginkgo biloba*), cáscara sagrada (*Rhamnus purshiana*) e sene (*Cassia angustifolia*). A contaminação bacteriana variou de $0,5 \times 10^1$ a $9,0 \times 10^4$ UFC/g, estando 5 amostras (18,5%), acima dos limites permitidos pela Farmacopeia Brasileira. A contaminação fúngica variou de $0,5 \times 10^1$ a $8,45 \times 10^4$ UFC/g, com 9 amostras (33,3%) acima dos limites permitidos pela Farmacopeia Brasileira.

5.2 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes

A tabela 4 apresenta os resultados deste estudo para a determinação do número mais provável (NMP/g) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes nas amostras de nutracêuticos. A Farmacopeia brasileira estabelece para as matérias primas de origem natural (vegetal, mineral ou animal) usadas em preparação para uso oral o limite de enterobactérias e outros microrganismos Gram negativos de no máximo $1,0 \times 10^2$ UFC/g, sendo que microrganismos potencialmente patogênicos como *E. coli* devem estar ausentes (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Tabela 4. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes nas amostras de nutracêuticos

Amostras	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes
	NMP/g	NMP/g
Beringela marca 1	ND	ND
Beringela marca 2	ND	ND
Romã	$1,0 \times 10^1$	$0,7 \times 10^1$
Graviola	$0,9 \times 10^1$	$0,6 \times 10^1$ *
Guaraná com açaí	$4,2 \times 10^2$	$3,7 \times 10^2$
Levedo cerveja	ND	ND

Os resultados foram expressos como média de análises em triplicata

DP = desvio padrão

* somente 1 bateria de tubos apresentou colônias

Os coliformes totais são pertencentes à família Enterobacteriaceae, bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, não esporulados, oxidase-negativos, capazes de crescer na presença de sais biliares, produtores de ácidos e gás a 35°C, em até 48 horas, a partir da fermentação da lactose. Contagens elevadas de coliformes totais evidenciam possíveis problemas higiênicos no processamento, possíveis contaminações pós-sanitização ou pós-processo (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Nas análises realizadas neste trabalho, a amostra de guaraná com açaí apresentou enumeração de enterobactérias (coliformes totais) acima do limite permitido pela farmacopeia brasileira ($4,2 \times 10^2$ NMP/g).

Os coliformes termotolerantes são pertencentes à microbiota intestinal tanto humana quanto de outros animais homeotérmicos e atuam como indicadores de poluição fecal. Os coliformes termotolerantes são capazes de fermentar lactose e produzir gás quando incubados em temperaturas mais elevadas ($45 \pm 0,5^\circ\text{C}$) e esse grupo é constituído majoritariamente por *E. coli* (90%). A presença de coliformes termotolerantes evidencia o risco da presença de microrganismos patogênicos de origem fecal (FRANCO & LANDGRAF, 2008). Nas análises deste estudo, seis amostras analisadas, três amostras

(romã, graviola e guaraná com açaí) mostraram enumeração de coliformes termotolerantes, sendo que a amostra de guaraná com açaí apresentou elevadas enumeração de coliformes termotolerantes ($3,7 \times 10^2$ NMP/g).

No estudo de SCHÜTZ et al. (2008) foram avaliadas 27 amostras de drogas vegetais secas e foi confirmada a presença de *Escherichia coli* em 2 amostras (7,4%) que foram consideradas insatisfatórias para o consumo.

5.3 Pesquisa de *Salmonella sp.* e de *Staphylococcus aureus*

Neste trabalho não houve detecção de *Salmonella sp.* e *S. aureus* nas amostras de produtos nutracêuticos.

6. Conclusão

Ao considerar os produtos nutracêuticos, verifica-se a importância da qualidade microbiológica, pois fatores como falta de boas práticas agrícolas e falta de boas práticas de fabricação prejudicam a qualidade microbiológica das matérias-primas e dos nutracêuticos. Os produtos contaminados podem se apresentar deteriorados e até serem capazes de transmitir bactérias patogênicas causadoras de doenças (gastroenterites). Considerando as recomendações da Farmacopeia Brasileira, neste estudo quatro amostras de produtos nutracêuticos (berinjela marca 1, graviola, guaraná com açaí e levedo de cerveja) foram consideradas insatisfatórias para o consumo. Assim, os resultados desse estudo apontam para a necessidade de um controle microbiológico mais rigoroso dos produtos nutracêuticos comercializados na cidade de Brasília.

7. Referências Bibliográficas

AJAIKUMAR, K.B.; ASHEEF, M.; BABU, B.H.; PADIKKALA, J. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum*, L. (pomegranate) methanolic extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n.1-2, p. 171-176, 2005.

AGUIAR, R. et al. Efeito da ingestão de cafeína em diferentes tarefas de tempo de reação. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, v. 34, n. 2, p. 465-476, 2012.

ALMEIDA S, AMARAL DD, SILVA ASL. Analise florística e estrutura de florestas de várzea no estuário amazônico. **Acta amazônica**, v. 34, p.513-24, 2004.

AVIRAN, M.; DORNFELD, L. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. **Atherosclerosis**, v. 158, n.1, p. 195- 198, 2001.

AVIRAN, M.; DORNFELD, L.; ROSENBLAT, M.; VOLKOVA, N.; KAPLAN, M.; COLEMAN, R.; HAYEK, T.; PRESSER, D.; FUHRMAN, B. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E- deficient mice. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n.5, p. 1062-1076, 2000.

BALDISSERA, A. C. et al. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.

BRASIL, 2008, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos - **Lista dos Novos Alimentos aprovados**, disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_alimentos.htm

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 2, de 07 de janeiro de 2002. **Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e probióticos isolados com alegação de Propriedade funcional e ou de Saúde.** Diário Oficial da União, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999, **Regulamento Técnico de Procedimentos de Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes.** Diário Oficial da União, 1999.

CANADÁ, Health Canada - **Therapeutic Products Programme and the Food Directorate from the Health Protection Branch - Policy Paper - Nutraceuticals/Functional Foods and Health Claims On Foods** – Nov. 2, 1998.

CARVALHO, M. M. S.; LINO, L. L. A. Avaliação dos fatores que caracterizam a berinjela como um alimento funcional. **Nutrire**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 130-143, 2014.

DAS, S.; RAYCHAUDHURI, U.; FALCHI, M.; BERTELLI, A.; BRAGA, P. C.; DAS, D. K. Cardioprotective properties of raw and cooked eggplant (*Solanum melongena* L), **Food Functional**, v. 2, n. 7, p. 395-399, 2011.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Food Chemistry**, v.52, p.1539-1545, 2004.

EDWARDS, H. G. M.; FARWELL, D. W.; OLIVEIRA, L. F. C.; ALIA, J. M.; LEHYARIC, M.; AMEIDA, M. V. FT-Raman spectroscopic studies of guarana and some extracts. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 532, p. 177-186, 2005.

ESPÍN, J.C.; GARCÍA-CONESA, M. T. & BARBERÁN, F.A.T. Nutraceuticals: Facts and fiction, **Phytochemistry**, v. 68, p. 2986-3008, 2007.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

FRAGOSO, R. L.; REYES-ESPARZA, J.; BURCHIEL, S. W.; HERRERA-RUIZ, D.; TORRES E. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico, **Toxicology and Applied Pharmacology**; v. 227, p. 125–135, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Editora Atheneu, São Paulo, 2008.

GONÇALVES, M. C. R.; COSTA, M. J. C.; ASCIUTTI, L. S. R.; DINIZ, M. F. F. M. Fibras dietéticas solúveis e suas funções nas dislipidemias. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 2, n. 22, p. 167- 173, 2007.

GONÇALVES, M. C. R.; DINIZ, M. F. F. M.; BORBA, J. D. C.; NUNES, X. P.; BARBOSA-FILHO, J. M. Berinjela (*Solanum melongena* L.) - mito ou realidade no combate as dislipidemias? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 252-257, 2006 a.

GONÇALVES, M. C. R.; DINIZ, M. F. F. M.; DANTAS, A. H. G.; BORBA, J. D. C. Modesto efeito hipolipemiante do extrato seco de berinjela (*Solanum melongena* L.) em mulheres com dislipidemias, sob controle nutricional. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, p. 656-63. 2006 b.

HAMIZAH, S.; ROSLIDA, A. H.; FEZAH, O.; TAN, K. L.; TOR, Y. S.; TAN, C. I. Chemopreventive potential of *Annona muricata* L leaves on chemically-induced skin papillomagenesis in mice. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. v. 13., n. 6, p. 2533-2539, 2012.

HANSRA, D. M.; SILVA, O.; MEHTA, A.; AHN, E. Patient with metastatic breast cancer achieves stable disease for 5 years on graviola and xeloda after progressing on multiple lines of therapy. **Advances in Breast Cancer Research**. v. 3, n. 3., p.84, 2014.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and health: a review of recent human research. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 101-23, 2006.

HOLDERNESS, J.; SCHEPETKIN, I. A.; FREEDMAN, B.; KIRPOTINA, L. N.; QUINN, M. T.; HEDGES, J. F.; JUTILA, M. A. Polysaccharides isolated from açai fruit induce innate immune responses. **Plos one**, v.6, n.2, p.1-14, 2011.

JARDINI, F. A.; FILHO, J. M. Avaliação da atividade em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum* L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 137-147, 2007.

LICHTENTHÄLER, R.; RODRIGUES, R. B.; MAIA, J. G. S.; PAPAGIANNPOULOS, M; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) fruits. **International Journal of food and nutritional Science**, v. 56, n. 1, p. 53-64, 2005.

LIRA, C. R. G.; et al. Nutraceuticos: aspectos sobre segurança controle de qualidade e legislação. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 1, p. 45-49, 2009.

MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açai (*Euterpe oleracea* Mart.) liofilizada. **Acta Amazônica**, v.38, n.2, p. 311-316, 2008.

MOGHADAMTOUSI, S. Z.; FADAEINASAB, M.; NIKZAD, S.; MOHAN, G.; ALI, H. M.; KADIR, H. A. *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 7, p.15625-15658, 2015.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições; legislação e benefícios á saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n. 2, p. 99-112, 2006.

OKUNLOLA, A.; BABATUNDE, A. A.; OLUWATOYIN A. O. Evaluation of pharmaceutical and microbial qualities of some herbal medicinal products in south western Nigeria; **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 1, p. 661-670, 2007.

PEDROSA, G. C. **Alimentos funcionais: legislação, comparações e um olhar sobre o café**, Monografia de Especialização, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

PEREZ, P. M. P; GERMANI, R. Farinha mista de trigo e berinjela: características físicas e químicas. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 15-24, 2004.

PINTO, L. C. **Aproveitamento de produtos derivados de levedura (*Saccharomyces* spp.) para o enriquecimento nutricional de alimentos à base de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**, Tese de mestrado, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, 2011.

RIBEIRO, B. D.; COELHO, M. A. S.; BARRETO, D. W. Obtenção de extratos de guaraná ricos em cafeína por processo enzimático e adsorção de taninos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 3, p. 261-270, 2012.

ROSA, G. et al. Comparação da suplementação de farinha de linhaça marrom desengordurada e farinha de berinjela na redução dos fatores de risco cardiovascular. **Revista Brasileira Cardiologia**, v. 24, p. 95-99, 2011.

ROSS, R.G.; SELVASUBRAMANIAN, S.; JAYASUNDAR, S. Immunomodulatory activity of *Punica granatum* in rabbits – a preliminary study. **Journal of Ethnopharmacology**, v.78, n.1, p. 85-87, 2001.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.58, n.2, p.187-192, 2008.

SANTOS, K.; KARAM, L. M.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C. Composição química da berinjela (*Solanum Melongena* L.). **Boletim do CEPPA**, v. 20, n. 2, p. 247-56, 2002.

SCHAUSS, A. G.; WU, X.; JENSEN, G. S. Increased antioxidant capacity and inhibition of lipid peroxidation in healthy adults consuming an açai (*Euterpe oleracea*) fruit-based juice. **Acta Horticulturae**, v. 841, p. 97-100, 2009.

SCHÜTZ, M. V.; VELAZQUEZ, C. C.; ABEGG, M. A. Avaliação da qualidade microbiológica das drogas vegetais mais comercializadas em farmácias de manipulação de Toledo – PR. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 12, n. 3, p. 181-186, 2008.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, M. O.; SILVA, M.; SILVA, M. E.; OLIVEIRA, R. P., PEDROSA, M. L. Diet supplementation with açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, n. 7-8, p. 804-810, 2010.

TORRES, M. P.; RACHAGANI, S.; PUROHIT, V.; PANDEY, P.; JOSHI, S.; MOORE, E. D.; BATRA, S. K. Graviola: a novel promising natural-derived drug that inhibits tumorigenicity and metastasis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo through altering cell metabolism. **Cancer letters**, v. 323, n. 1, p.29-40, 2012.

Zaroni, M.; Pontarolo, R.; Abrahão, W. S. M.; Fávero, M. L. D; Correa Júnior, C.; Stremel, D. P. 2004. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 14 (1): 29-39.