

# PETRIFILM NA CONTAGEM DE FUNGOS FILAMENTOSOS E LEVEDURAS DE CINCO MARCAS DE CAFÉ

Carla Adriana Pizarro SCHMIDT<sup>1</sup>, E-mail: cs910@yahoo.com.br; Édison MIGLIORANZA<sup>2</sup>; Valdemar Padilha FELTRIN<sup>3</sup>; Rosana Cristina KOTHE<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Docente Mestre da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Medianeira (UTFPR-MD), Doutoranda do Curso de Agronomia da UEL; <sup>2</sup> Docente Doutor da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Bolsista Produtividade do CNPq; <sup>3</sup> Docente Mestre da Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Medianeira (UTFPR-MD); <sup>4</sup> Discente do Curso de Tecnologia em Alimentos da UTFPR-MD.

## Resumo:

Visando avaliar a qualidade microbiológica dos cafés comercializados nos mercados do estado do Paraná, dois lotes de cinco marcas diferentes de café foram submetidos à análise microbiológica de fungos filamentosos e leveduras em duplicata e por dois métodos; método tradicional e método moderno (Petrifilm). Concluiu-se que as marcas apresentaram contaminação microbiológica inferior a permitida pela legislação e que os dois métodos foram eficientes nessa detecção.

Palavras-chave: Café, fungos filamentosos, métodos microbiológicos, boas práticas de fabricação.

## PETRIFILM IN YEAST AND MOLD COUNTING OF FIVE COFFEES BRANDS

### Abstract:

To evaluate the microbiological quality of coffees commercialized in markets of Paraná state in Brasil, two lots of five different brands of coffee were submitted to microbiological analysis of molds in duplicate and in two methods: the traditional method and the modern method (Petrifilm). We concluded that the brands had microbiological contamination within the permitted by the legislation and that both methods had been efficient in this detection.

Key-words: Coffee, molds, microbiology methods, good manufacture practices.

### Introdução

O setor cafeeiro mundial vem passando por mudanças estruturais nos últimos dez anos, decorrentes principalmente de alterações institucionais. O Brasil, como ator de grande relevância nesse setor, também tem sofrido essas modificações, ainda mais por se tratar de um grande produtor, um grande consumidor e um mercado em expansão (SCHIAVI, 2003).

Hoje, o café é o segundo maior gerador de riquezas do planeta, perdendo apenas para o petróleo em termos de dólares comercializados no mundo (ILLY, 2002). O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (SOUZA, 2003 e 2004; SAES e NAKAZONE, 2004).

Mais do que um hábito nacional, segundo Neves (2005), o cafezinho é parte integrante da construção da identidade nacional, além de ser um dos protagonistas da história econômica do País. Mas, é coisa do passado aquele cafezinho feito de grãos conhecidos, torrados e moídos em casa.

Hoje temos as indústrias de torrefação que cuidam dessa tarefa, mas nem sempre sabemos o que tem dentro daquele saquinho ou daquele tijolo retangular, a embalagem do café a vácuo (MELO, 2005).

Apesar disso, o Brasil ainda é o segundo maior mercado consumidor de café do mundo, o consumo per capita tem crescido novamente, o fim do tabelamento interno de preços possibilitou o surgimento de cafés de qualidade com preços diferenciados (ORMOND, PAULA E FILHO, 1999).

A contaminação microbiológica do café torrado acontece, quase sempre, após a torrefação, pois o emprego de temperaturas elevadas durante esse processo elimina o risco de se utilizar matérias-primas inadequadas. Por vezes, a falta de boas práticas de fabricação, as quais objetivam manter as condições higiênicas durante o manuseio e o acondicionamento do produto final podem causar essa recontaminação.

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são um conjunto de normas empregadas em produtos, processos, serviços e edificações, visando a promoção e a certificação da qualidade e da segurança do alimento. No Brasil, as BPF são legalmente regidas pelas Portarias 1428/93-MS (BRASIL, 1993) e 326/97-SVS/MS (BRASIL, 1997a).

A qualidade da matéria-prima, a arquitetura dos equipamentos e das instalações, as condições higiênicas do ambiente de trabalho, as técnicas de manipulação dos alimentos, a saúde dos funcionários são fatores importantes a serem considerados na produção de alimentos seguros e de qualidade, devendo, portanto, serem considerados nas BPF.

Os fungos constituem um grande e diversificado grupo de microrganismos composto por milhares de espécies que podem ser detectadas no solo, ar, água e alimentos. Eles são organismos eucariotas, aclorofilados, heterotróficos, com reprodução sexuada e assexuada, capazes de utilizar uma grande variedade de substratos como fontes de carbono, nitrogênio e energia.

Segundo Hajdenwurcel (1998) os métodos modernos de análise microbiológica de alimentos surgiram a partir da década de 70 visando reduzir o tempo de análise nos laboratório de microbiologia, aumentando-se a produtividade do trabalho realizado. Esses métodos apresentam uma série de vantagens como a redução do tempo de análise, do tempo de retenção do produto na indústria e dos custos, além da simplificação de tarefas de análise e facilidade de leitura de resultados, quando comparados aos métodos tradicionais possuem maior especificidade e sensibilidade. Os mais encontrados no mercado são os para coliformes totais e *E. coli*, contagem de fungos filamentosos e leveduras, detecção de *Salmonella* spp e *Listeria monocytogenes*.

A portaria 451/97-MS, (BRASIL, 1997b), estabelecia um limite máximo para fungos filamentosos e leveduras no café torrado de  $5 \times 10^3$  por grama do produto, mas, em 2001 essa portaria foi revogada pela RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, (BRASIL, 2001), a qual estabeleceu padrões apenas para Coliformes a  $45^\circ\text{C/g}$  no café torrado, visando compatibilizar a legislação nacional com os regulamentos em relação aos critérios e padrões microbiológicos adotados para alimentos no Mercosul.

Essa resolução eliminou assim o limite anteriormente estabelecido para fungos filamentosos e leveduras nesse produto o que gerou preocupação entre os microbiologistas, visto que se espera um aumento na negligência por parte das empresas quando uma análise não é cobrada ou controlada pela ANVISA, o que poderia representar um retrocesso na busca de qualidade crescente do café brasileiro.

Realizou-se o presente estudo objetivando testar a eficiência do método moderno de Petrifilm na detecção de fungos filamentosos e leveduras em comparação com o método tradicional, bem como verificar a qualidade microbiológica dos cafés comercializados nos mercados do Oeste do Estado do Paraná.

## Material e Métodos

Foram amostrados dois lotes de cinco marcas de café tradicional, embaladas a vácuo, todas contendo o selo de pureza da ABIC, totalizando 10 unidades amostrais, ou seja, 10 porções de 25g de embalagens individuais que foram analisadas, tomadas de forma totalmente aleatória de cada lote. Essas amostras foram diluídas em 225mL de água destilada tamponada e peptonada (ADTP) 0,1% até a diluição  $10^{-4}$ .

A semeadura em placas foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade (pour-plate), utilizando-se 1mL de cada um dos inóculos e 20 mL de Ágar Batata Dextrose (BDA) para fungos filamentosos e leveduras da marca BIOLIFE, acidificado com 1,5 mL de ácido tartárico 10% para cada 100ml de meio. A semeadura em Petrifilm foi feita pela adição de 1mL de cada um dos inóculos no centro do Petrifilm e posterior difusão deste por meio de equipamento apropriado (AOAC, 1995).

As análises foram realizadas em duplicata, tanto para o método tradicional, de contagem de fungos filamentosos e leveduras em placas, com o uso de BDA como para o método moderno com Petrifilm da marca 3M. As colônias foram contadas com o auxílio do contador de colônias, nas placas de petri após 5 e 7 dias da inoculação e nos Petrifilms após 3 e 5 dias da inoculação, durante esse período permaneceram a uma temperatura média de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Foram contadas apenas placas e Petrifilms com contagens entre 10 e 150 UFC - Unidades Formadoras de Colônias (TOURNAS et al., 2001).

## Resultados e Discussão

O método moderno do Petrifilm forneceu resultados mais rápido que o método tradicional e os valores encontrados foram semelhantes, para 5 dias em placas 3 dias em Petrifilm e para 7 dias em placas 5 dias em Petrifilm, em todas as amostras e lotes analisados, não foram encontradas contagens superiores ao limite estabelecido pela portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997. A contaminação em todos os lotes de todas as amostras, tanto após 5 e 7 dias para análise em placas, como após 3 e 5 dias para os Petrifilms, foram  $< 5 \times 10^3$  por grama do produto, o que significa que apesar da legislação não estar mais exigindo esse parâmetro, ainda assim essas cinco marcas se mantiveram dentro do limite anteriormente permitido.

Pode-se sugerir que a manutenção da qualidade se deva ao compromisso das empresas com a ABIC, visto que possuem o selo de pureza que foi implantado em dezembro de 1988, mantendo um programa de autofiscalização. O objetivo do Selo de Pureza ABIC foi, exatamente, sanear o setor, distinguindo as indústrias preocupadas em produzir um café puro e denunciando aqueles que fraudam e misturam seus produtos, confundindo o consumidor (ABIC, 2004).

Apesar do Selo de Pureza ABIC atestar apenas que um determinado produto é livre de misturas, e não garantir a qualidade do produto em termos microbiológicos e sensoriais, acredita-se que as empresas atualmente participantes desse programa estejam interessadas em entrar no novo programa da ABIC, o Programa de Qualidade do Café (PQC), além de já terem em mente a importância da qualidade para o produto.

Através do PQC, entidades especializadas fazem auditoria nas indústrias para verificar o cumprimento dos requisitos técnicos essenciais para que seus produtos sejam certificados com o Selo de Qualidade ABIC, uma garantia dada pela ABIC – Associação Brasileira da Indústria do Café, às indústrias que produzem dentro das normas de qualidade recomendáveis e com boas práticas de fabricação constantes no Programa de Qualidade do Café (PQC). O Selo de Qualidade ABIC dispensa o Selo de Pureza (ABIC, 2006).

Ao assegurar as boas práticas de fabricação, a qualidade microbiológica tende a melhorar, mesmo que esta não seja posta em prova periodicamente.

Nas amostras analisadas nenhuma colônia de levedura foi encontrada, algumas colônias de fungos filamentosos foram visualizadas, mas o número de colônias esteve abaixo do número indicado para contagem. Quando existe uma contaminação diversificada o Petrifilm é capaz de diferenciar de forma bastante evidente as colônias de fungos filamentosos (amarelas) e de leveduras (verde azuladas). Nesse trabalho, foram encontradas apenas colônias de fungos filamentosos (amareladas) nas menores diluições, em pequeno número, o que não comprometeu a qualidade final do produto, visto que a legislação tem uma tolerância até  $5 \times 10^3$  por grama de pó de café e recomenda contagem apenas de placas contendo entre 10 e 150 UFC.

Felizmente, o investimento em marketing e controle de qualidade, tem sido uma arma eficaz da cafeicultura brasileira na reconquista do mercado interno. Segundo Neves (2005), no período de 12 meses, entre novembro de 2003 e outubro de 2004, o consumo do produto no País cresceu 8,97%, cerca de seis vezes mais que a média mundial, de 1,5% ao ano.

O Petrifilm forneceu resultados confiáveis mais rapidamente do que a metodologia tradicional de forma mais prática, visto que não necessita o preparo dos meios de cultura, o uso e posterior higienização de placas de petri, nem a adição de ácido tartárico visando inibir o crescimento de bactérias.

Por esse método ser de mais fácil execução e ter apresentado resultados compatíveis com os obtidos pela metodologia tradicional, acredita-se que as empresas poderiam utilizá-lo sem problemas para verificar a possível contaminação do café torrado e moído, por fungos filamentosos e leveduras, apesar dele não ser o método indicado como oficial pela ANVISA é um método validado pela AOAC para avaliação dos padrões de identidade microbiológica de alimentos.

Por todos os motivos expostos, acredita-se que as indústrias poderiam avaliar por meio da metodologia moderna do Petrifilm a qualidade sanitária de seu produto, independentemente das vistorias e recomendações da ANVISA.

## Conclusões

Diante dos resultados obtidos nas análises, pode-se concluir que:

- As cinco marcas de café analisadas encontravam-se dentro dos padrões microbiológicos legalmente estabelecidos pela portaria 451/97-MS;
- A metodologia de Petrifilm se apresentou mais prática e rápida e seus resultados foram compatíveis com os encontrados pela metodologia tradicional nas 10 amostras avaliadas.

## Referências Bibliográficas

ABIC. **Guia prático do programa de qualidade do café - PQC**. 1ed. nov. 2004. Disponível em: [http://www.abic.com.br/gar\\_qualidade.html](http://www.abic.com.br/gar_qualidade.html). Acesso em: 12 set. 2006.

ABIC. **Programa de qualidade do café (PQC): Passo a Passo**. 2006. Disponível em: [http://www.abic.com.br/arquivos/pqc\\_passoapasso\\_abr06.pdf](http://www.abic.com.br/arquivos/pqc_passoapasso_abr06.pdf). Acesso em: 12 set. 2006.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis 997.02**. Arlington, Virgínia, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=padr%C3%B5es%20microbiol%C3%B3gicos%20para%20caf%C3%A9#>. Acesso em: 10 dez. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº1428/MS de 26 de novembro de 1993**. Aprova o regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos, as diretrizes para o estabelecimento de boas práticas de produção e de prestação de serviços na área de alimentos e o regulamento técnico para o estabelecimento de padrões de identidade e qualidade (PIQ's) para serviços e produtos na área de alimentos. Disponível em: [http://anvsa.saude.gov.br/Procuradoria\\_alimentos/POR\\_TARIA%201428\\_93.html](http://anvsa.saude.gov.br/Procuradoria_alimentos/POR_TARIA%201428_93.html). Acesso em: 05 fev. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 326-SVS/MS de 30 de julho de 1997a**. Aprova o regulamento técnico; condições higiênicas-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores e de alimentos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326\\_97.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326_97.htm)>. Acesso em 24 ago 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997b**. Aprova o Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus Anexos I, II e III. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 22 de setembro de 1997. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em: 10 ago 2006.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. 66p.

ILLY, E. A saborosa complexidade do café. **Scientific American Brasil**, n.2, jul. 2002.

MELO, W.L.B. O cafezinho nosso de cada dia. **Revista cafeicultura**, 19 dez. 2005. Disponível em: <http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3722>. Acesso em: 14 ago 2006.

NEVES, R. Além dos sete mares. **Revista Forbes Brasil**, ed.121, 20 out. 2005.

ORMOND, J. G. P.; PAULA, S. R. L.; FILHO, P. F. Café: (Re)Conquista dos mercados. **BNDES Setorial**. Rio de Janeiro, n.10, p.3-56, set. 1999.

SAES, M. S. M.; NAKAZONE, D. O agronegócio café do Brasil no mercado internacional. **Fae Business**, n.9, set. 2004. Disponível em: [http://www.fae.edu/publicacoes/pdf/revista\\_fae\\_business/n9/12\\_agronegocio.pdf](http://www.fae.edu/publicacoes/pdf/revista_fae_business/n9/12_agronegocio.pdf). Acesso em: 12 out. 2006.

SCHIAVI, S. M. de A. **Relatório setorial preliminar**. Finep, 03 de set. de 2003. Disponível em: [http://www.finep.gov.br/PortalDPP/relatorio\\_setorial/impressao\\_relatorio.asp?lst\\_setor=15](http://www.finep.gov.br/PortalDPP/relatorio_setorial/impressao_relatorio.asp?lst_setor=15). Acesso em: 10 out. 2006.

SOUZA, C. C. de. **Indicadores Globais do Agronegócio: Mundo e Brasil**. Série Agronegócios – Diagnósticos e Tendências; 1. Brasília: Segunda versão do autor, 2004. 276 p.

SOUZA, C. C. de. **Suprimento e Comércio de Alimentos: Mundo e Brasil**. Série Agronegócios – Diagnósticos e Tendências; 1. Brasília: Segunda versão do autor, 2003. 376 p.

TANIWAKI, M. H., IAMANAKA, B. T., BANHE, A. A. Comparison of culture media to recover fungi from an tropical fruit pulp. **J. Food Mycology**, v.2, p.291-302, 1999.

TOURNAS, V.; STACK, M. E.; MISLIVEC, P. B.; KOCH, H. A.; BANDER, R. Yeasts, molds and mycotoxins. In: **Bacteriological Analytical Manual Online**, Chapter 18, 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18.html>. Acesso em: 13 mar 2007.