

Avaliação de qualidade microbiológica de farinha de subproduto de café: Adequação metodológica para contagem total com predominância de *Bacillus* *spp.*

A. L. C. Pinto¹, M. A. Rodrigues², L. C. Ferreira³, B. G. Santos⁴, G. L. P. A. Ramos⁵, T. M. Uekane⁶

1- Faculdade de Farmácia - Universidade Federal Fluminense - CEP: 24241-000 - Niterói - RJ - Brasil, Telefone: (21) 2629-9561 - email: analuisapinto@id.uff.br

2- Faculdade de Farmácia - Universidade Federal Fluminense - CEP: 24241-000 - Niterói - RJ - Brasil, Telefone: (21) 2629-9561 - email: mariana_aranda@id.uff.br

3- Faculdade de Farmácia - Universidade Federal Fluminense - CEP: 24241-000 - Niterói - RJ - Brasil, Telefone: (21) 2629-9561 - email: lucas_camara@id.uff.br

4- Faculdade de Farmácia - Universidade Federal Fluminense - CEP: 24241-000 - Niterói - RJ - Brasil, Telefone: (21) 2629-9561 - email: betsygois@id.uff.br

5- Faculdade de Farmácia - Universidade Federal Fluminense - CEP: 24241-000 - Niterói - RJ - Brasil, Telefone: (21) 2629-9561 - email: gustavoanciens@id.uff.br

6- Faculdade de Farmácia - Universidade Federal Fluminense - CEP: 24241-000 - Niterói - RJ - Brasil, Telefone: (21) 2629-9561 - email: thaisuekane@id.uff.br

RESUMO – O fruto do café apresenta de 45-50% de seus constituintes denominados como resíduos sólidos, que são geralmente descartados durante o processamento pós-colheita. Este pode impactar na qualidade dos resíduos, uma vez que o fruto fica sujeito a alterações ambientais e a fermentações. A elaboração de uma farinha desses resíduos de café apresenta potencial como ingrediente alimentar, pois possuem fibras, proteínas e compostos bioativos. Assim, objetivou-se caracterizar a qualidade microbiológica da farinha de polpa de café produzida. Para tal, testou-se diferentes meios de cultura com tempos de incubação diferentes. Como resultados, foi observada uma população característica de *Bacillus* sp., com posterior confirmação do gênero por espectrometria de massas. Obteve-se a carga microbiana presente na farinha e os meios de cultura e condições que possibilitaram melhor resultado. A amostra apresentou indicativos de adequação às boas práticas com baixo risco à saúde considerando farinhas alimentícias.

ABSTRACT - The coffee fruit has 45-50% of its constituents known as solid residues, which are generally discarded during post-harvest processing. This can affect the quality of the waste, as the fruit is subject to environmental changes and fermentation. The preparation of a flour from this coffee waste has potential as a food ingredient, as it contains fiber, proteins and bioactive compounds. The aim was therefore to characterize the microbiological quality of the coffee pulp flour produced. To this end, different culture media with different incubation times were tested. As a result, a characteristic population of *Bacillus* sp. was observed, with subsequent confirmation of the genus by mass spectrometry. The microbial load present in the flour and the culture media and conditions that gave the best results were obtained. The sample showed indications of compliance with good practices with low health risks considering food flours.

PALAVRAS-CHAVE: casca do café, polpa de café, análise microbiológica, *Bacillus* sp.

KEY-WORDS: Coffee by-product, coffee husk, coffee pulp, microbiology analysis, quality analysis.

1. INTRODUÇÃO

O café, pertencente à família Rubiaceae e do gênero *Coffea*, apresenta o Brasil como um de seus maiores produtores mundiais, com cerca de 54,2 milhões de sacas de café produzidas em 2023 (Ferreira e Cavaton, 2023). Dentro dessa família, observa-se que a espécie mais relevante economicamente é a *C. arabica*, conhecida como o café arábica, que sozinha apresentou uma produção de 38,9 milhões de sacas, no mesmo ano (Ferreira e Cavaton, 2023).

Anatomicamente, o fruto do café, denominado cereja do café, é constituído por: casca, mucilagem, pergaminho, película prateada e semente (grão do café) (Ferreira, 2019). Durante o processo de produção, tem-se o aproveitamento da semente como produto alimentício que, após processamento, originará a bebida café, e os demais constituintes, correspondendo a 45-50% do fruto, que não são o grão do café, são descartados como resíduo sólido ou como um produto derivado do café (Graça e Caldas, 2017).

Resíduos sólidos descartados são materiais, substâncias, objetos ou bens descartados resultantes de atividade humana, inviáveis ao lançamento na rede pública de saneamento (Brasil, 2010). Dentro deste conceito, as partes anatômicas do fruto do café que são consideradas como resíduos sólidos com potencial para subproduto são: casca/polpa, pergaminho, mucilagem e película prateada (Dúran, 2017).

As vias de processamento do fruto de café podem interferir em suas características físicas, químicas, sensoriais e microbiológicas, que são necessárias para compor a qualidade da bebida e, conseqüentemente, no tipo de resíduo sólido gerado (Febrianato e Zhu, 2023). Dessa forma, observam-se duas vias de processamento prevalentes no mercado: a via úmida, um processo que utiliza água de lavagem, para depois serem secados de forma artificial (secadores mecânicos) ou natural (terreiros), e a via seca, que não utiliza água de lavagem, com os resíduos também sendo secados de forma artificial (secadores mecânicos) ou natural (terreiros); os resíduos são denominados de polpa e casca, respectivamente (Casé, 2022).

Durante o processamento pós-colheita do café, a contaminação por microrganismos pode ocorrer, que pode ser favorecida pela falta de cuidados durante o processo operacional, especialmente, durante a etapa de secagem natural dos grãos (Banti e Abraham, 2021). Devido a variabilidade das condições climáticas, podem ocorrer inconsistências na secagem por diversos fatores, como a absorção da umidade, levando a uma possível fermentação e deterioração não só do grão, mas do fruto como um todo (Banti e Abraham, 2021). A presença de microrganismos pode afetar o fruto do café, não apenas causando conseqüências nos fatores sensoriais do fruto, como aspecto, sabor e odor, mas também afetando a segurança alimentar do produto (Santana e Chesca, 2022).

Novos alimentos ou novos ingredientes alimentícios são aqueles que não apresentam histórico de consumo seguro no Brasil, podendo ser de origem vegetal, animal, mineral, entre outros (Brasil, 2023). Dessa forma, para que um produto possa ser considerado como novo alimento ou ingrediente, deve-se considerar o histórico de seu consumo pela população brasileira, suas características (composição e origem) e seu processo de produção (Brasil, 2024). E a fim de se comprovar sua segurança, deve-se realizar diversos testes de qualidade, dentre eles: testes microbiológicos (Brasil, 2023). Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de uma farinha de polpa de café, visando seu possível uso como ingrediente alimentar. Em virtude da população de *Bacillus* sp. encontrada, também objetivou-se adequar a metodologia de contagem total para esta condição.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os resíduos sólidos de café foram obtidos através de doação de produtores de café brasileiro e, para a produção da farinha, moídos por um moinho doméstico por cerca de 30 segundos e peneirados em tamis de abertura 250 µm (60 mesh) para obtenção da farinha de subproduto.

Foram realizadas análises microbiológicas de contagem de microrganismo totais na amostra a partir da metodologia proposta pelo Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água de Silva *et al.* (2017), a partir da inoculação em Ágar Padrão para Contagem (APC) com incubação a 35°C/48h.

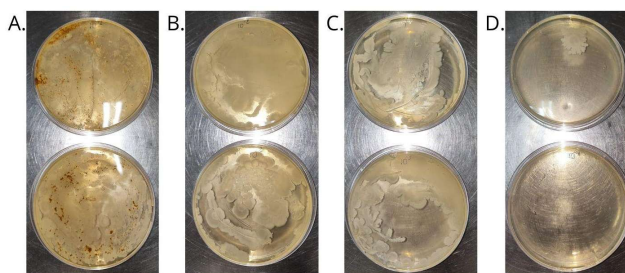
Em função da população microbiana observada como resultado, foram executadas análises complementares com o objetivo de determinar a melhor metodologia de contagem, onde foram utilizados os meios de cultura Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), Ágar Triptona de Soja (TSA), Ágar Sabouraud e Ágar Vermelho Violeta Bile Glicose (VRBG), em diferentes tempos de incubação: 35°C/24h e 35°C/16h.

Para a identificação das colônias e melhor entendimento da população observada, realizou-se espectrometria de massas por ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF), a partir da seleção de colônias isoladas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o tempo de incubação de 35°C/48h em APC, foi possível observar um grande crescimento de colônias características do gênero *Bacillus*, o que impossibilitou a contagem das placas (Figura 1).

Figura 1 – Ágar Padrão para Contagem (APC A. Diluição 10^{-1} ; B. Diluição 10^{-2} ; C. Diluição 10^{-3} ; D. Diluição 10^{-4}).



Com isso, foi realizado um teste para a contagem de microrganismos totais em Ágar APC incubados a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$. Contudo, esse teste continuou a apresentar colônias grandes, impossibilitando a contagem, sendo necessário outro teste com as placas incubadas a $35^{\circ}\text{C}/16\text{h}$.

Ademais, como foram observadas colônias características do gênero *Bacillus*, realizou-se uma contagem em Ágar MYP, a fim de se verificar uma possível presença de *Bacillus cereus*. Em Ágar MYP, as colônias típicas de *Bacillus cereus* costumam apresentar coloração rosa; entretanto, isso apenas foi observado em demasiado na diluição 10^{-1} .

A partir desses resultados e diante da dificuldade de contagem, foram realizados novos testes em Ágar Sabouraud, para pesquisa de bolores e leveduras, Ágar Bile Vermelho Violeta Glicose (VRBG), para enterobactérias, Ágar Triptona De Soja (TSA), e Ágar MYP, todos incubados a $35^{\circ}\text{C}/16\text{h}$.

Após o novo tempo de incubação, o Ágar APC continuou a apresentar colônias muito grandes, impossibilitando a contagem, dessa forma, demonstrou-se não ser possível utilizar esse tipo de meio para a contagem de microrganismos em amostras com aparente predominância do gênero *Bacillus*. O Ágar MYP novamente não apresentou crescimento de colônias típicas de *Bacillus cereus*, indicando que o crescimento exacerbado em Ágar APC provavelmente não é decorrente dessa espécie, como antecipado anteriormente, mas provavelmente de outra espécie do gênero. O Ágar VRBG não apresentou qualquer crescimento; indicando que o crescimento em Ágar APC não é decorrente de enterobactérias.

O Ágar TSA apresentou crescimento nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} (Figura 3); e o Ágar Sabouraud, nas diluições 10^{-1} e 10^{-2} (Figura 4). Dessa forma, foi possível realizar a contagem total em ambos os meios, obtendo-se: $3,6 \cdot 10^4$ UFC g^{-1} no Ágar TSA e $7,3 \cdot 10^3$ UFC g^{-1} no Ágar Sabouraud.

Figura 2 – Ágar Triptona de Soja (TSA). A. Diluição 10^{-1} ; B. Diluição 10^{-2} ; C. Diluição 10^{-3} ; D. Diluição 10^{-4} .

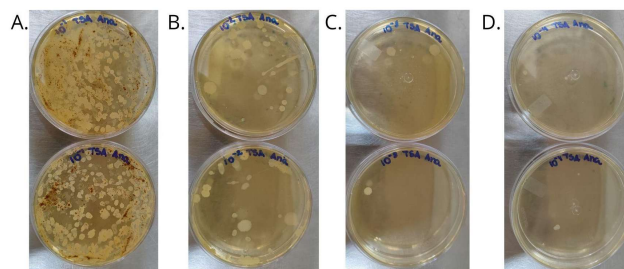
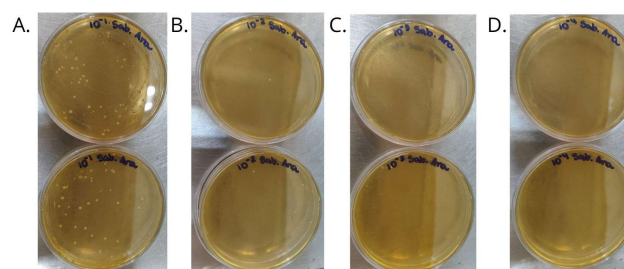


Figura 3 – Ágar Sabouraud. A. Diluição 10^{-1} ; B. Diluição 10^{-2} ; C. Diluição 10^{-3} ; D. Diluição 10^{-4} .



A partir destes resultados, foi possível conhecer a condição microbiológica da amostra e identificar qual dos meios propostos seria o mais ideal para realizar a contagem. Para confirmação da hipótese de alta população de *Bacillus* sp., foram selecionadas colônias isoladas características e submetidas à identificação por espectrometria de massas por ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF). Assim, a identidade dos isolados foi confirmada como *Bacillus subtilis*, que se mostrou a população predominante na amostra, com a melhor condição para a realização de sua contagem total sendo em meio TSA em incubação $35^{\circ}\text{C}/16\text{h}$. Estas condições serão utilizadas futuramente na avaliação de processamento da farinha de subproduto de café por diversos tratamentos tecnológicos.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a amostra de farinha de subproduto de café, em um primeiro momento, não apresentou a presença de microrganismos indicativos de falhas de boas práticas e de risco à saúde do consumidor, como o *Bacillus cereus* e as enterobactérias, presentes na legislação para farinhas e para café torrado e moído. Contudo, apresentou população predominante de outras espécies do gênero *Bacillus*, como *Bacillus subtilis*, que por suas propriedades fenotípicas acabam prejudicando a metodologia de contagem, sendo necessárias adaptações metodológicas para correta verificação da qualidade microbiológica da amostra.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANTI, M.; ABRAHAM, E. Coffee Processing Methods, Coffee Quality and Related Environmental Issues. 2021. **Journal of Food and Nutrition Sciences**, 2021, 9(6), p. 144-152.

BRASIL, Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. [Brasília]: **Diário Oficial da União**, Capítulo 2, Artigo 3, XVI, 2 de agosto de 2010.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Novos ingredientes e alimentos. [Brasília]: Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, [2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/alimentos/novos-ingredientes-e-alimentos>. Acesso em: 28 abr. 2024.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 839 de 14 de dezembro de 2023. Dispõe sobre a comprovação de segurança e a autorização de uso de novos alimentos e novos ingredientes. [Brasília]: Ministério da Saúde - MS, **Diário Oficial da União**, 2023.

CASÉ, I.N. **Processos alternativos de secagem do café arábica**. Tese (Trabalho de Conclusão de Curso) - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2022.

DURÁN, C.A.A., TSUKUI, A.; SANTOS, F.K.F; MARTINEZ, S.T.; BIZZO, H. R.; REZENDE, C.M. Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida. **Rev.Virtual Quim.**, 2017, 9 (1), p. 107-134.

FEBRIANTO, N.A.; ZHU, F. Coffee bean processing: Emerging methods and their effects on chemical, biological and sensory properties. **Rev. Food Chemistry**, 2023, v. 412:135489.

FERREIRA, L. T., CAVATON, T. Artigo - Safra dos Cafés do Brasil totalizou 54,21 milhões de sacas de 60kg no ano-cafeeiro 2024. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Estudos Socioeconômicos e Ambientais Produção vegetal. 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/97725735/artigo---safra-dos-cafes-do-brasil-totalizou-5421-milhoes-de-sacas-de-60kg-no-ano-cafeeiro-2024>. Acesso em: 09 fev. 2025.

FERREIRA, T.; SHUELER, J.; GUIMARÃES, R.; FARAH, A. Introduction to Coffee Plant and Genetics. **Coffee: Production, Quality and Chemistry**, 2019, n1, p. 3-25.

GRAÇA, C.H.; CALDAS, R.M.F. Estimativa da quantidade de resíduos (casca e polpa) produzidos durante o processo de beneficiamento do café no município de Varginha, MG. **Revista Geonorte**, 2017, 8 (30), p. 104-117.

SANTANA, A.F.M.; CHESCA, A.C. Qualidade microbiológica de café torrado e moído. **VI Encontro de Desenvolvimento de Processos Agroindustriais**. Uberaba, Minas Gerais, 2022.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; GOMES, R.A.R.; OKAZAKI, M.M. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 5ª ed. [São Paulo]: Blucher, 2017.